



Suscetibilidade Genética para a Osteoporose segundo vias metabólicas: Vias de transmetilação e de transsulfuração

Carla Sofia Mendes Carvalho

Mestrado em Biologia Humana e Ambiente

Dissertação orientada por:
Professor Doutor Manuel Bicho
Professora Doutora Deodália Dias

“In the middle of difficulty lies opportunity.”

“The important thing is to not stop questioning. Curiosity has its own reason for existing.”

Albert Einstein
(1879-1955)

À Minha Família

Agradecimentos

É com grande orgulho que termino esta fase tão importante da minha vida. Contudo, não teria sido possível terminar esta fase sem a ajuda de várias pessoas, às quais agradeço imenso, do fundo do meu coração.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Professor Doutor Manuel Bicho (diretor do Laboratório de Genética), por me ter aceite e de me ter dado a oportunidade de desenvolver este trabalho no Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina de Lisboa (FML). Agradeço também pelo apoio, orientação e conhecimentos transmitidos na realização deste trabalho.

Gostaria também de agradecer à Professora Doutora Deodália Dias, Professora e Coordenadora do Mestrado em Biologia Humana e Ambiente, por ter aceitado ser minha orientadora interna e por toda a disponibilidade, simpatia, carinho e motivação ao longo deste ano.

À Dra. Joana Ferreira do Laboratório Genético da FML, que apesar de não ter sido minha orientadora “oficial”, foi uma das pessoas mais importantes e que mais me ajudou no decorrer deste último ano. Agradeço por toda a ajuda dada na realização desta tese, por toda a simpatia, por ter estado sempre disponível e presente e por ter tido uma enorme paciência comigo.

Ao Prof. Doutor Mário Rui Mascarenhas, endocrinologista, e à Dra. Ana Paula Barbosa responsáveis pela avaliação clínica dos indivíduos que constituíram a amostragem estudada. Sem eles não seria possível a realização desta tese.

À Dra. Carolina Santos que esteve sempre presente, disponível, pronta a ajudar e a tirar todo o tipo de dúvidas. Obrigada pela paciência e conversas ao longo deste último ano.

À Dra. Andreia Matos, à Técnica Conceição Afonso, à D. Fátima, à Dra. Ana Luísa, à Dra. Rita e à Dra. Márcia Faria pela companhia, ajuda e disponibilidade.

A todos os meus colegas de Laboratório de Genética da FML, Carolina Ribeiro, Denise Brito, Francisca Paixão e David Sarmento, um muito obrigado por toda a ajuda, apoio e momentos divertidos passados neste último ano. Um especial obrigado à Carolina Ribeiro por todos os bons e maus momentos passados, pelo companheirismo, brincadeiras, risos, abraços, mimos, choro, paciência e apoio dado ao longo deste ano.

O maior agradecimento de todos vai para os meus pais, irmãos e sobrinhas. Sem o vosso apoio e incentivo nada disto seria possível e não teria chegado onde cheguei. Obrigada por tudo o que fazem por mim, por estarem sempre presentes, pelo amor incondicional, por me transmitirem bons exemplos e valores. Obrigada às minhas sobrinhas por me aturarem, por me fazerem esquecer os problemas, por me fazerem feliz e por me mostrarem que na vida existem momentos em que não faz mal ser de novo uma criança.

Ao José Diogo, obrigada por todo o carinho, amor, dedicação, paciência e compreensão. Sei que não é fácil aturar-me, mas sem o teu apoio nada disto seria possível. Foste o meu grande companheiro, confidente e melhor amigo nestes últimos anos. Obrigada por teres ficado sempre ao meu lado, por teres acreditado em mim, mesmo quando eu não acreditava e por me teres dado forças para ultrapassar todos os maus momentos.

A todos, um sincero e profundo obrigado por tornarem possível a conclusão desta etapa tão importante da minha vida.

Resumo:

A Osteoporose é uma doença multifatorial já que a suscetibilidade para o seu desenvolvimento é condicionada por múltiplos fatores genéticos e ambientais. Por sua vez, a interação entre estes fatores pode proporcionar uma redução na densidade mineral óssea (DMO), levando a alterações na microarquitetura do osso, a uma diminuição considerável da resistência óssea e a um aumento do risco de fraturas.

Dado o aumento da população envelhecida em Portugal e o facto de a Osteoporose afetar maioritariamente a faixa etária mais idosa, uma em cada três mulheres e um em cada cinco homens estão em risco de uma fratura osteoporótica, sendo esta patologia encarada como um problema de saúde pública cada vez mais relevante, tornando o estudo dos seus fatores de suscetibilidade e desenvolvimento também cada vez mais pertinente.

A fisiopatologia desta doença está associada à desregulação dos mecanismos de remodelação óssea, através do aumento da reabsorção óssea pelos osteoclastos e/ou redução da sua formação por via dos osteoblastos. No entanto, existem muitas medidas que podem ser tomadas para prevenir e diagnosticar a Osteoporose, tornando esta patologia essencialmente tratável, pois com uma combinação de mudanças de estilo de vida e de tratamento médico adequado, muitas fraturas podem ser prevenidas.

Os objetivos desta dissertação são: determinar a suscetibilidade genética para a Osteoporose através da análise de polimorfismos genéticos de enzimas envolvidas nas vias metabólicas de Transmetilação – DHFR e MTHFR – e Transsulfuração – CβS e GST e suas isoformas, e ainda estudar a relação destes polimorfismos genéticos com os parâmetros metabólicos e de remodelação óssea.

Para este trabalho foram estudados 503 indivíduos seguidos na consulta de endocrinologia da Clínica de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo de Lisboa Lda. pelo Prof. Doutor Mário Rui Mascarenhas. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação da DMO em diferentes partes do esqueleto por DXA, e posteriormente divididos em três grupos: a) densidade mineral óssea normal (N=185 – 36,8%); b) Osteopenia (N=160 – 31,8%); c) Osteoporose (N=158 – 31,4%). Os indivíduos foram genotipados para os polimorfismos CβS, DHFR, MTHFR e GST por PCR e PCR-RFLP. A visualização dos produtos de amplificação e de restrição foi realizada por eletroforese em gel de agarose. A análise estatística dos dados foi efetuada no programa SPSS 25.0 e considerada significativa estatisticamente para um $p < 0,05$.

Através do estudo realizado percebeu-se que a idade e o IMC estão diretamente relacionados com a suscetibilidade para a Osteoporose e que a atividade da Fosfatase alcalina se encontra aumentada nas amostras das populações com DMO reduzida. Da relação entre os polimorfismos genéticos e a DMO, percebemos que apenas o polimorfismo da MTHFR influencia diretamente a DMO, com um risco de 2,205 vezes superior para o desenvolvimento de Osteoporose nos genótipos CC ou CT. Percebeu-se ainda que existe uma relação entre todos os polimorfismos estudados e os metabolismos lipídico, glicídico e de remodelação óssea, contribuindo indiretamente para a suscetibilidade para a Osteoporose.

O osso não é um órgão isolado e estático, tendo também funções endócrinas, dado que se encontra em constante interação com outros sistemas do organismo humano. Podemos concluir que a DMO reduzida está associada não só a alterações nos parâmetros de remodelação óssea como também nos metabolismos lipídico e da glicose. Conclui-se ainda que os polimorfismos estudados nos genes das vias de Transmetilação e Transsulfuração podem condicionar alterações nestes mesmos parâmetros, influenciando indiretamente a susceptibilidade para a Osteoporose. Por último, podemos constatar que o polimorfismo genético C677T do gene MTHFR confere susceptibilidade direta para o desenvolvimento de Osteoporose.

Apesar de serem necessárias mais pesquisas e investigações sobre este tema, os resultados desta dissertação apontam para um papel relevante das vias de Transmetilação e Transsulfuração no desenvolvimento de Osteoporose, aumentando assim o conhecimento sobre a fisiopatologia e a possibilidade de novas medidas preventivas e de tratamento desta doença.

Palavras-chave: Osteoporose; Remodelação óssea; Suscetibilidade Genética; Vias de Transmetilação e Transsulfuração; Polimorfismos Genéticos CβS/DHFR/MTHFR/GST.

Abstract:

Osteoporosis is a multifactorial disease as the susceptibility to its development is conditioned by multiple genetic and environmental factors. In turn, the interaction between these factors may lead to a reduction of bone mineral density (BMD), causing changes in bone microarchitecture, a considerable decrease in bone strength and an increased risk of fractures.

With the increase of the elderly population in Portugal and because Osteoporosis mostly affects the older people, one out of three women and one out of five men are at risk for an osteoporotic fracture, and so this pathology has been seen as an increasingly relevant health problem, making the study of its susceptibility and development factors even more important.

The pathophysiology of this disease is associated with the dysregulation of bone remodeling mechanisms through the increase of bone resorption by osteoclasts and/or reduction of their formation by osteoblasts. However, there are many measures that can be taken to prevent and diagnose Osteoporosis, making this pathology essentially treatable, as with a combination of lifestyle changes and proper medical treatment many fractures can be prevented.

The objectives of this dissertation work are: to determine the genetic susceptibility to Osteoporosis through the analysis of genetic polymorphisms of enzymes involved in the metabolic pathways of Transmethylation – DHFR and MTHFR – and Transsulfuration – C β S and GST, and their isoforms, and also to study the relation of these genetic polymorphisms with metabolic parameters and bone remodeling.

For this study, 503 individuals were studied in the endocrinology consultation of the Endocrinology Clinic, Diabetes and Metabolism of Lisboa Lda. Doctor Mario Rui Mascarenhas. All subjects were submitted to a BMD evaluation by DXA in different parts of the skeleton and were later divided into three groups: a) normal bone mineral density (N = 185 - 36.8%); b) Osteopenia (N = 160 - 31.8%); c) Osteoporosis (N = 158 - 31.4%). All of them were also genotyped for C β S, DHFR, MTHFR and GST polymorphisms by PCR and PCR-RFLP. The visualization of the amplification and restriction products was performed by agarose gel electrophoresis. The statistical analysis of the data was performed in the SPSS 25.0 program and considered statistically significant for a $p < 0.05$.

From the study it was concluded that age and BMI are directly related to the susceptibility to Osteoporosis and that alkaline phosphatase activity is increased in samples from populations with reduced BMD. From the relationship between genetic polymorphisms and BMD, we noticed that only the MTHFR polymorphism directly influences BMD, with a risk of 2,205 times higher for the development of osteoporosis in the CC or CT genotypes. It was also observed that there is a relationship between all the polymorphisms studied and the lipid, glucose and bone remodeling metabolisms, contributing indirectly to the susceptibility to Osteoporosis.

The bone is not an isolated and static organ, but it also has endocrine functions, being in constant interaction with other systems of the human organism. We can conclude that reduced BMD is associated not only with changes in bone remodeling parameters but also with lipid and glucose metabolisms. It is also concluded that the studied polymorphisms in the genes of the Transmethylation and Transsulfuration pathways, can define changes in these same parameters, indirectly influencing the susceptibility to Osteoporosis. Finally, we can see that the genetic polymorphism C677T of the MTHFR gene confers direct susceptibility to the development of Osteoporosis.

Although further research on this matter is still necessary, the results of this dissertation point to the relevant role of Transmethylation and Transsulfuration pathways in the development of Osteoporosis, thus increasing the knowledge about the pathophysiology and the possibility of new preventive measures and treatment for this disease.

Keywords: Osteoporosis; Bone remodeling; Genetic susceptibility; Transmethylation and Transsulfuration Pathways; Genetic Polymorphisms C β S/DHFR/MTHFR/GST.

Publicações

Apresentações em Poster em Congressos nacionais

- O papel dos polimorfismos dos genes GSTT1 e GSTM1 na asma brônquica. Margarida Castro (Lisbon, Portugal), Joana Ferreira, Carla Carvalho, David Sarmento, Andreia Matos, Manuel Bicho. Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica 2018, 28-30 de Setembro, Figueira da Foz, Portugal.

Apresentações em Poster em Congressos Internacionais

- May polymorphisms of DHFR, CBS and MTHFR genes modulate metabolic and bone remodeling parameters associated with reduced bone mineral density? Ferreira, J; Carvalho, C; Ribeiro, C; Sarmento, D; Barbosa, AP; Mascarenhas, MR; Bicho, M. 20th European Congress of Endocrinology (ECE 2018), 19-22 de Maio, Barcelona, Espanha.
- The role of GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in bronchial asthma. Margarida Castro (Lisbon, Portugal), Joana Ferreira, Carla Carvalho, David Sarmento, Andreia Matos, Manuel Bicho. European Respiratory Society 2018, 15-19 de Setembro, Paris, França.
- 19 bp del DHFR polymorphism in bronchial asthma. Margarida Castro (Lisbon, Portugal), Joana Ferreira, David Sarmento, Carla Carvalho, Andreia Matos, Manuel Bicho. European Respiratory Society 2018, 15-19 de Setembro, Paris, França.

Resumo em revistas Internacionais com arbitragem científica

- May polymorphisms of DHFR, CBS and MTHFR genes modulate metabolic and bone remodeling parameters associated with reduced bone mineral density? Ferreira, J; Carvalho, C; Ribeiro, C; Sarmento, D; Barbosa, AP; Mascarenhas, MR; Bicho, M. Endocrine Abstracts 2018; 56 (P201).
- The role of GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in bronchial asthma. Margarida Castro (Lisbon, Portugal), Joana Ferreira, Carla Carvalho, David Sarmento, Andreia Matos, Manuel Bicho. European Respiratory Journal (ainda não disponível).
- 19 bp del DHFR polymorphism in bronchial asthma. Margarida Castro (Lisbon, Portugal), Joana Ferreira, Carla Carvalho, Diogo Sarmento, Andreia Matos, Manuel Bicho. European Respiratory Journal (ainda não disponível).

Índice

Índice de tabelas	VII
Índice de figuras	XI
Índice de Abreviaturas.....	XII
1 Introdução.....	1
1.1 O Osso, parte integral do esqueleto humano.....	2
1.2 Osteoporose, uma doença óssea.....	4
1.2.1 Fisiopatologia da perda óssea	5
1.2.2 Diagnóstico e fatores de risco	7
1.2.3 Metabolismo da Homocisteína	11
1.2.4 Metabolismo ósseo e relação com o metabolismo glicídico	14
1.2.5 Metabolismo ósseo e relação com o metabolismo lipídico	17
1.2.6 Relação entre a Osteoporose e a Obesidade.....	19
1.2.7 Epidemiologia e custos associados	19
1.3 Polimorfismos genéticos em análise	20
1.3.1 Gene da β -sintetase da cistationina (C β S)	21
1.3.2 Gene da redutase do Dihidrofolato (DHFR).....	23
1.3.3 Gene da metilenotetrahidrofolato (MTHFR)	24
1.3.4 Gene da S-Transferase do Glutationo (GST) e isoformas (GSTT1, GSTM1, GSTP1).....	26
1.3.5 Resumo dos Polimorfismos estudados e a direção teoricamente esperada	29
2 Objetivos do estudo e a sua finalidade	30
2.1 Objetivos/Finalidade	31
3 Materiais e Métodos	32
3.1 Descrição da Amostra Populacional	33
3.1.1 Caracterização da Amostra Populacional	33
3.2 Parâmetros avaliados	34
3.2.1 Parâmetros Antropométricos e Sociodemográficos	34
3.2.2 Parâmetros Metabólicos	34
3.2.3 Parâmetros Genéticos	34
4 Resultados	43
4.1 Caraterização da população	44
4.1.1 Descrição Geral da População	44
4.1.2 Relação entre a Densidade Mineral Óssea e os Parâmetros Antropométricos, Sociodemográficos e Metabólicos	45
4.2 Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros e Metabólicos	46
4.2.1 População Total	46
4.2.2 Classificação de DMO	47
4.3 Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea	50

4.4	Relação entre os Polimorfismos Genéticos e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos.....	51
4.4.1	Polimorfismo da <i>CβS</i>	51
4.4.2	Polimorfismo do <i>DHFR</i>	55
4.4.3	Polimorfismo da <i>MTHFR</i>	59
4.4.4	Polimorfismo do <i>GSTT1</i>	63
4.4.5	Polimorfismo do <i>GSTM1</i>	66
4.4.6	Polimorfismo do <i>GSTP1</i>	68
5	Discussão.....	73
5.1	Caraterização da população	74
5.2	Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros Metabólicos.....	76
5.3	Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea	78
5.4	Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos.....	79
5.4.1	Polimorfismo da <i>CβS</i>	80
5.4.2	Polimorfismo do <i>DHFR</i>	80
5.4.3	Polimorfismo da <i>MTHFR</i>	81
5.4.4	Polimorfismo da <i>GSTT1</i>	82
5.4.5	Polimorfismo da <i>GSTM1</i>	82
5.4.6	Polimorfismo da <i>GSTP1</i>	83
6	Conclusão e Perspetivas Futuras	85
6.1	Conclusão.....	86
6.2	Perspetivas Futuras	88
7	Referências Bibliográficas	89
8	Anexos.....	101
8.1	Protocolos	102
8.1.1	Anexo 1 – Protocolo Experimental: Extração de ADN pelo método de salting-out	102
8.2	Material, Reagentes, Soluções	103
8.2.1	Anexo 2 – Equipamento de laboratório e reagentes	103
8.2.2	Anexo 3 – Soluções.....	103
8.3	Tabelas completas/Correlações.....	104
8.3.1	Anexo 4 – Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros Metabólicos	104
8.3.2	Anexo 5 – Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea.....	114
8.3.3	Anexo 6 – Relação entre os Polimorfismos Genéticos e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos	115

Nota da autora: Referências bibliográficas de acordo com o formato de citação da revista *European Journal of Human Genetics*.

Índice de tabelas

TABELA 1.1 – DEFINIÇÃO/CRITÉRIOS DE OSTEOPOROSE SEGUNDO A OMS ⁵⁵	7
TABELA 1.2 – EXEMPLOS DE MARCADORES DE FORMAÇÃO E REABSORÇÃO ÓSSEA E RELAÇÃO COM A OSTEOPOROSE.....	8
TABELA 1.3 – QUADRO RESUMO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DA CbS, DHFR, MTHFR E GST (T1, M1 E P1) ANALISADOS, RESPECTIVAS DIREÇÕES TEÓRICAS ESPERADAS, EFEITOS NO RISCO DA PRESENÇA DA VARIANTE PARA UM MAIOR GRAU DE OSTEOPOROSE.....	29
TABELA 3.1 – NÚMERO TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS PARA CADA POLIMORFISMO.....	34
TABELA 3.2 – POLIMORFISMOS GENÉTICOS ANALISADOS, LOCALIZAÇÃO NO CROMOSSOMA E RESPECTIVAS ALTERAÇÕES.....	35
TABELA 3.3 – POLIMORFISMO, SEQUÊNCIA DOS PRIMERS, CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO E RESTRIÇÃO.....	37
TABELA 3.4 – CARACTERÍSTICAS DO GEL DE ELECTROFORESE PARA CADA POLIMORFISMO E BANDAS VISUALIZADAS	38
TABELA 4.1 – DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO PARA OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS.....	44
TABELA 4.2 - DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO PARA OS PARÂMETROS GENÉTICOS	44
TABELA 4.3 – RELAÇÃO ENTRE A CLASSIFICAÇÃO DE DMO E O SEXO.....	45
TABELA 4.4 – PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS SEGUNDO A DMO.....	45
TABELA 4.5 - PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS SEGUNDO A DMO (DMO NORMAL VS OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE).....	46
TABELA 4.6 – RELAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS ESTUDADOS E A DMO.....	50
TABELA 4.7 – RELAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS ESTUDADOS E A DMO (DMO NORMAL VS OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE).....	51
TABELA 4.8 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL.....	52
TABELA 4.9 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL	52
TABELA 4.10 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA.....	53
TABELA 4.11 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE.....	53
TABELA 4.12 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE.....	54
TABELA 4.13 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL.....	54
TABELA 4.14 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	55
TABELA 4.15 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA CbS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE.....	55
TABELA 4.16 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	55
TABELA 4.17 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS QUE APRESENTAM DMO NORMAL..	56

TABELA 4.18 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA	56
TABELA 4.19 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPOROSE	57
TABELA 4.20 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	57
TABELA 4.21 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR AGRUPADO (INS/INS OU INS/DEL VS DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE.....	58
TABELA 4.22 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR AGRUPADO (INS/INS VS INS/DEL OU DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL.....	58
TABELA 4.23 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA DHFR AGRUPADO (INS/INS VS INS/DEL OU DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE.....	59
TABELA 4.24 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	59
TABELA 4.25 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM DMO NORMAL	60
TABELA 4.26 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA	60
TABELA 4.27 - RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPOROSE	61
TABELA 4.28 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	61
TABELA 4.29 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR AGRUPADO EM CC OU CT VS TT E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL.....	62
TABELA 4.30 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR AGRUPADO EM CC OU CT VS TT E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE.....	62
TABELA 4.31 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR AGRUPADO EM CC VS CT OU TT E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL.....	63
TABELA 4.32 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA MTHFR AGRUPADO EM CC VS CT OU TT E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	63
TABELA 4.33 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTT1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	63
TABELA 4.34 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTT1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM DMO NORMAL.....	64
TABELA 4.35 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTT1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA	64
TABELA 4.36 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTT1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPOROSE	65
TABELA 4.37 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTT1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	65

TABELA 4.38 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTM1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	66
TABELA 4.39 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTM1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL.....	66
TABELA 4.40 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTM1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	67
TABELA 4.41 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTM1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	67
TABELA 4.42 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTM1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	68
TABELA 4.43 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	68
TABELA 4.44 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM DMO NORMAL.....	69
TABELA 4.45 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA	69
TABELA 4.46 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPOROSE	70
TABELA 4.47 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	70
TABELA 4.48 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 AGRUPADO EM AA OU AG VS GG E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPENIA	71
TABELA 4.49 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 AGRUPADO EM AA VS AG OU GG E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM DMO NORMAL	71
TABELA 4.50 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO GENÉTICO DA GSTP1 AGRUPADO EM AA; AG OU GG E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA OS INDIVÍDUOS COM OSTEOPOROSE.....	72
TABELA 8.1 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL.....	104
TABELA 8.2 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO CONTROLO (DMO NORMAL)	106
TABELA 8.3 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	108
TABELA 8.4 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	110
TABELA 8.5 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, SOCIODEMOGRÁFICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	112
TABELA 8.6 – RELAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS ESTUDADOS E A DMO (DMO NORMAL VS OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE)	114
TABELA 8.7 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA CBS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	115
TABELA 8.8 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA CBS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA....	115

TABELA 8.9 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA CBS (DEL/DEL VS INS/DEL OU INS/INS) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE.....	115
TABELA 8.10– RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA DHFR (INS/INS OU INS/DEL VS DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE.....	116
TABELA 8.11 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA DHFR (INS/INS VS INS/DEL OU DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM DMO NOMAL ..	116
TABELA 8.12 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA DHFR (INS/INS VS INS/DEL OU DEL/DEL) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE.	117
TABELA 8.13 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA MTHFR (CC OU CT VS TT) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	117
TABELA 8.14 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA MTHFR (CC OU CT VS TT) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	118
TABELA 8.15 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA MTHFR (CC VS CT OU TT) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO TOTAL	118
TABELA 8.16 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA MTHFR (CC VS CT OU TT) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	118
TABELA 8.17 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA GSTP1 (AA OU AG VS GG) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	119
TABELA 8.18 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA GSTP1 (AA VS AG OU GG) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL.....	119
TABELA 8.19 – RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO DA GSTP1 (AA VS AG OU GG) E OS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	120

Índice de figuras

FIGURA 1.1 – EXEMPLO DA CONSTITUIÇÃO DE UM OSSO ⁶	2
FIGURA 1.2 – ESTRUTURA INTERNA DE UM OSSO LONGO ¹⁰	3
FIGURA 1.3 – CORTE GROSSO DE UM OSSO SECO, EM QUE VÊ O OSSO CORTICAL E O TRABECULAR ⁴	3
FIGURA 1.4 – DIFERENÇA ENTRE A MATRIZ ÓSSEA NORMAL E A DE UM OSSO OSTEOPORÓTICO ¹⁸	4
FIGURA 1.5 – DIFERENÇA ENTRE UM FÊMUR SAUDÁVEL E COM OSTEOPOROSE ¹⁹	4
FIGURA 1.6 – EXEMPLO DE UMA FRATURA DO COLO DO FÊMUR ²²	4
FIGURA 1.7 – EXEMPLO DE UM ESQUEMA SIMPLIFICADO DE COMO OCORRE A REMODELAÇÃO ÓSSEA..	6
FIGURA 1.8 – ENZIMAS DAS VIAS DE TRANSMETILAÇÃO (METIONINA → HOMOCISTEÍNA), REMETILAÇÃO (HOMOCISTEÍNA → METIONINA) E TRANSULFURAÇÃO (HOMOCISTEÍNA → METIONINA → SULFATO) ENVOLVIDAS NO METABOLISMO DA HCY.	13
FIGURA 1.9 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DA MANUTENÇÃO DA REMODELAÇÃO ÓSSEA.	16
FIGURA 1.10 – AÇÕES DOS LÍPIDOS E DA SOBRECARGA OXIDANTE SOBRE O CRESCIMENTO ÓSSEO.	18
FIGURA 1.11 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DO CBS ¹²⁷	21
FIGURA 1.12 – DIAGRAMA DO GENE CBS NORMAL E MUTADO.	21
FIGURA 1.13 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DO DHFR ¹²⁷	24
FIGURA 1.14 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DA MTHFR ¹²⁷	25
FIGURA 1.15 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DO GSTT1 ¹²⁷	27
FIGURA 1.16 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DO GSTM1 ¹²⁷	28
FIGURA 1.17 – LOCALIZAÇÃO GENÉTICA DO GSTP1 ¹²⁷	28
FIGURA 3.1 – GEL DE AMPLIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO CBS INS68 PB EXÃO 8.	39
FIGURA 3.2 – GEL DE AMPLIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO DHFR DEL19 PB INTRÃO 1.	39
FIGURA 3.3 – GEL DE AMPLIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO MTHFR C677T.	40
FIGURA 3.4 – GEL DE AMPLIFICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GSTM1/T1.	40
FIGURA 3.5 – GEL DE AMPLIFICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GSTP1 ILE105VAL.	41
FIGURA 4.1 – CORRELAÇÃO DIRETA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO TOTAL	46
FIGURA 4.2 – CORRELAÇÃO INVERSA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO TOTAL	47
FIGURA 4.3 – CORRELAÇÃO DIRETA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL	47
FIGURA 4.4 – CORRELAÇÃO INDIRETA ENTRE OS DIVERSOS TIPOS DE PARÂMETROS E A CLASSIFICAÇÃO DE DMO PARA A POPULAÇÃO COM DMO NORMAL	47
FIGURA 4.5 – CORRELAÇÃO DIRETA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	48
FIGURA 4.6 – CORRELAÇÃO INVERSA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA	48
FIGURA 4.7 – CORRELAÇÃO DIRETA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	48
FIGURA 4.8 – CORRELAÇÃO INVERSA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPOROSE	49
FIGURA 4.9 – CORRELAÇÃO DIRETA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	49
FIGURA 4.10 – CORRELAÇÃO INVERSA ENTRE OS PARÂMETROS DE REMODELAÇÃO ÓSSEA E OS PARÂMETROS METABÓLICOS, PARA A POPULAÇÃO COM OSTEOPENIA OU OSTEOPOROSE	49
FIGURA 4.11 – ANÁLISE REALIZADA PARA CADA POLIMORFISMO EM ESTUDO (DIVISÃO DOS GENÓTIPOS E DIVISÃO DA POPULAÇÃO)	51

Índice de Abreviaturas

5-metil-THF ou 5-MTHF	5-metil-tetrahidrofolato/5-metilotetrahidrofolato;
5, 10-metileno-THF	5, 10-metileno-tetrahidrofolato;
µg	Micrograma;
ADN	Ácido desoxirribonucleico;
ALP	Fosfatase alcalina;
Alw 26I	Enzima de restrição;
ANOVA	Análise de variância;
apoB 100	Apolipoproteína B;
apoE	Apoliproteínas E;
ATP	Adenosina trifosfato;
Ca	Cálcio;
CβS	Cistationina β-sintase;
Del	Deleção;
DHF	Dihidrofolato;
DHFR	Redutase do Dihidrofolato;
DM	Diabetes <i>Mellitus</i> ;
DMO	Densidade Mineral óssea;
DP	Desvio padrão;
dbSNP	Base pública de polimorfismo de base única;
dTMP	Desoxitimidilato;
dUMP	Desoxiuridilato;
DXA	Absorciometria por dupla emissão de raios-x;
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético;
FA	Fosfatase alcalina;
FA_{óssea}	Fração óssea da Fosfatase alcalina;
FGF	Fibroblast growth factor;
FRAX	Instrumento de avaliação do risco de fratura;
Glut	Transportadores de Glicose;
Glut 1 e 4	Transportadores de Glicose pela via 1 e pela via 4;
GSH	Glutationa;
GSTM1	Glutathione S-transferases M1;
GSTP1	Glutathione S-transferases P1;
GSTT1	Glutathione S-transferases T1;
H₂O	Água;
HDL	Lipoproteína de alta densidade;
HCys	Homocisteína;
Hinfl	Enzima de restrição;
HOMA_{IR}	Índice de resistência à insulina;
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg;
IC	Intervalo de confiança;
IMC	Índice de Massa Corporal;
Ins	Inserção;
IOF	Fundação Internacional da Osteoporose;
kg	Kilograma;
LDL	Lipoproteína de baixa densidade;

LDL-C	Colesterol de lipoproteína de baixa densidade;
m²	Metro quadrado;
Me	Metionina;
Min	Minutos;
mL	Mililitro;
mM	Milimolar;
mmol	Milimole;
Ms	Sintetase da metionina;
MSC	Células-tronco mesenquimais multipotentes;
MTHFR	5'-metilenotetrahidrofolato redutase;
NADH	Dinucleotídeo reduzido da nicotinamida adenina;
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina;
NF-κB	Fator nuclear kappa B;
ng	Nanograma;
nm	Nanómetro;
OC	Osteocalcina;
OPG	Osteoprotegerina;
OMS	Organização Mundial de Saúde;
OR	<i>Odds ratio</i> ;
P	Fósforo;
pb	Pares de bases;
PCR	Reacção em cadeia polimerase;
PCR-RFLP	Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição;
pmol	Picomole;
PTH	Hormona da Paratiroideia/Paratormona;
PYD	Piridinolina total urinária;
RANK	Recetor ativador do NF-κB;
RANKL	Ligando do recetor ativador do NF-κB;
RNA_m	Ácido ribonucleico mensageiro;
ROS	Espécie reativa de oxigénio;
SAH	S-Adenosilhomocisteína;
SAM	S-adenosilmetionina;
Seg	Segundos;
SGLTs	Transportadores de glicose acoplados ao sódio;
SNP	Banco de dados de Polimorfismos de nucleótidos únicos;
SPODOM	Sociedade Portuguesa de Osteoporose e Doenças Ósseas Metabólicas;
TAE	Tampão tris-acetato-EDTA;
TBS	Trabecular Bone Score;
THF	Tetrahidrofolato;
tOC	Osteocalcina totalmente carboxiladas;
ucOC	Osteocalcina parcialmente carboxilada (sub-carboxilada);
UV	Radiação Ultravioleta;
VLDV	Lipoproteínas de baixa densidade;
vs	<i>Versus</i> .

1 Introdução

1.1 O Osso, parte integral do esqueleto humano

A Osteoporose é uma patologia que ocorre no tecido ósseo. Assim, antes de se abordar esta doença é necessário perceber o que é o “Osso”, dado que estes dois temas encontram-se em constante interação/relação¹.

O osso é o elemento mais importante do corpo humano. É um tecido ósseo amplamente especializado, com uma estrutura complexa e multifacetada que se encontra em constante remodelação, sendo recentemente visto como um órgão endócrino.^{1,2,3-5} Cada osso presente no nosso corpo pode ser visto como um órgão, já que o osso é constituído por múltiplos tecidos (Figura 1.1)⁶ – cartilagem, tecido ósseo, conjuntivo, hematopoético, adiposo, nervoso e pelo epitélio – que agem em conjunto.^{7,8} O osso, e por conseguinte o esqueleto, são muito importantes, dado que são responsáveis por funções como as de:^{1,2,8,9}

- Suporte – ajuda no suporte do peso corporal e na sua forma;^{1,2,8,9}
- Armazenamento/Homeostasia de minerais e de energia – ocorre através do armazenamento de cálcio, fósforo e carbonato de magnésio nos ossos, que posteriormente são libertados para a corrente sanguínea;^{1,2,8,9}
- Movimento – os músculos e os ossos formam o sistema locomotor, pelo que os ossos facilitam os movimentos corporais através dos músculos esqueléticos;^{1,2,8,9}
- Proteção dos órgãos – ajuda na proteção dos órgãos através da sua rigidez e resistência;^{1,2,8,9}
- Produção de células – através da hematopoiese, ocorre a produção de eritrócitos, plaquetas e leucócitos. Esta produção dá-se através da medula óssea, ossos do crânio/costelas que posteriormente ajudam na substituição de perdas por motivo de doença.^{1,2,8,9}

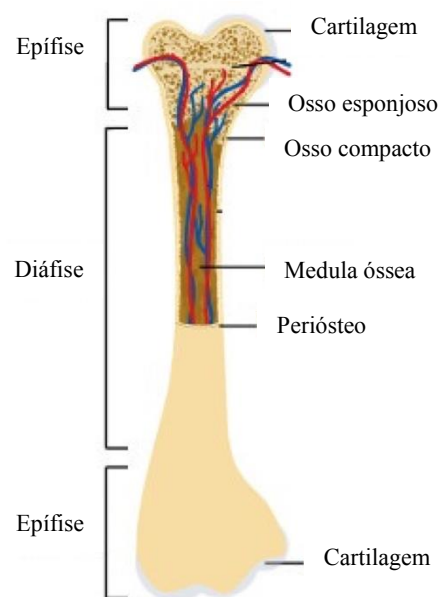


Figura 1.1 – Exemplo da constituição de um osso⁶

Este órgão é ainda importante por causa das características que possui – como o nível de rigidez, elasticidade, plasticidade e fragilidade –, isto porque são essas características que tornam o osso num tecido fundamental para o suporte, manutenção, proteção e movimento do nosso corpo.^{1,7-9}

A matriz óssea é constituída por substâncias minerais (hidroxiapatite de cálcio – cálcio e fosfato $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$) e pela matriz extracelular inorgânica e orgânica – constituída por fibras de colagénio tipo I em 90% de toda a matriz –, que conferem rigidez e estabilidade ao osso. A matriz óssea é ainda constituída por proteínas, fosfolípidos e proteoglicanos. É ainda importante salientar que, morfológicamente, o osso é constituído essencialmente por dois tecidos ósseos, o osso cortical/compacto e o trabecular/esponjoso (Figura 1.2¹⁰ e 1.3⁴), sendo que estes se distinguem: a) pelo corte da superfície óssea, em que o tecido cortical é sólido e homogéneo e o tecido trabecular é esponjoso; b) pela porosidade, em que no osso compacto varia entre os 5 e os 30% e no osso trabecular entre os 30% e mais de 90%.^{1,2,4}

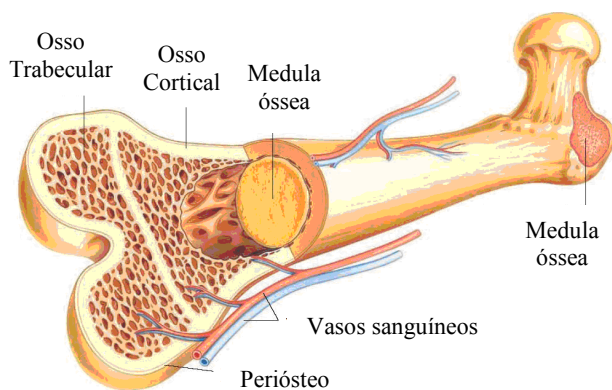


Figura 1.2 – Estrutura interna de um osso longo¹⁰

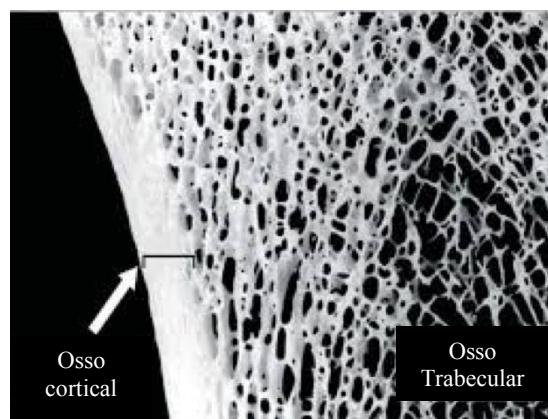


Figura 1.3– Corte grosso de um osso seco, em que vê o osso cortical e o trabecular⁴

O osso cortical é o que se encontra na camada exterior do osso e representa cerca de 80% da massa óssea total, sendo que nos ossos longos, este tipo de osso pode também existir no interior. Este tipo de osso é constituído essencialmente por uma matriz sólida e densa, em que as fibras de colagénio se apresentam paralelas ao eixo e alinhadas com as tensões que são exercidas no osso. As funções principais deste tecido são as, de proteção, suporte, movimento e resistência dos ossos longos à tensão sob eles exercida pelo peso corporal do indivíduo.^{1,11,12} Já o osso trabecular é o que se encontra na parte interna do osso e integra cerca de 20% da massa óssea total, sendo composto por redes de trabéculas ósseas separadas por espaços grandes, originando uma aparência esponjosa. Este tipo de tecido ósseo encontra-se na medula óssea e epífises e é responsável pelas funções metabólicas. A sua unidade constituinte é a trabécula, constituída por finas colunas de osso irregulares que se encontram em constante renovação.^{13,14}

As células ósseas são parte integral do osso e encontram-se estreitamente relacionadas com a Osteoporose, já que, se relacionam com a continua remodelação óssea – desde que nascemos até que morremos –, permitem o crescimento ósseo e a respetiva adaptação ao meio ambiente e às tensões que são exercidas sob o osso. As células ósseas que participam e são responsáveis pelo processo de remodelação óssea (descrito no capítulo seguinte) são nomeadamente os:^{4,15–17}

- Osteoblastos – são as células responsáveis pela manutenção do osso, porque englobam os processos de formação, remodelação e reparação de fraturas que ocorrem no tecido ósseo. Encontram-se na superfície do osso e sintetizam o colagénio e componentes orgânicos para construir o osso;^{4,15–17}
- Osteócitos – são as células que compõem a principal componente celular do osso (cerca de 95%) e as que se encontram em maior abundância. Estas células diferenciam-se a partir dos osteoblastos e são responsáveis pela manutenção do metabolismo ósseo (troca de nutrientes e produtos catabólicos);^{4,15–17}
- Osteoclastos – são as células fagocitárias que têm a função de erodir o osso, encontrando-se na superfície do osso que vai ser reabsorvido. Estas células são de grandes dimensões e possuem enzimas lisossomais que têm a função de reabsorver a matriz óssea destruída.
- Células osteogénicas – encontram-se na face interna do periosteio e endosteio.^{4,15–17}

Quando ocorrem erros nas células ósseas e na constituição/formação do osso em si, podem surgir diversos tipos de patologias, sendo uma delas a Osteoporose (exemplo representativo na Figura 1.4¹⁸).^{4,13,15}

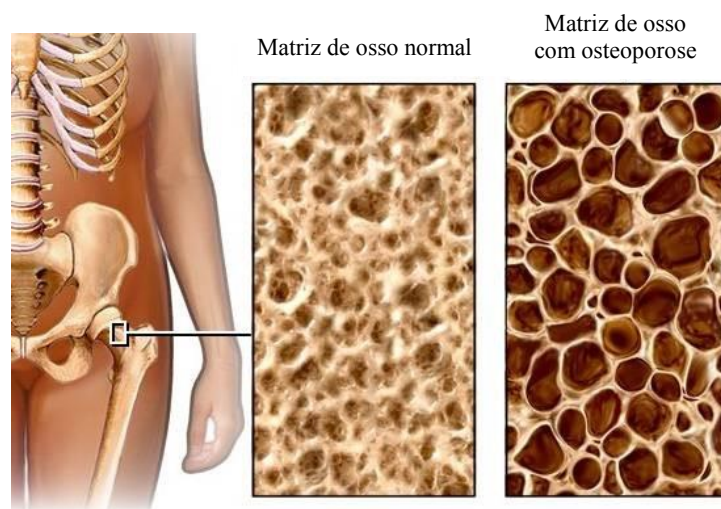


Figura 1.4 – Diferença entre a matriz óssea normal e a de um osso osteoporótico¹⁸

1.2 Osteoporose, uma doença óssea

A Osteoporose é uma doença multifatorial, caracterizada pela diminuição da massa óssea e pela deterioração crônica da microarquitetura do tecido ósseo. Estas características proporcionam um aumento da fragilidade óssea e do risco de fraturas (principalmente após um traumatismo), levando a que o osso osteoporótico seja designado de “osso poroso” (fêmur da Figura 1.5¹⁹).^{20,21,9} Trata-se de uma doença metabólica/esquelética crônica do osso, clinicamente silenciosa e progressiva até à ocorrência de fraturas. As fraturas mais comuns são no pulso, coluna vertebral e anca (Figura 1.6²²), em que a ocorrência das duas últimas aumentam com a idade, enquanto que as do pulso diminuem (depois dos 60 anos).^{13,20}

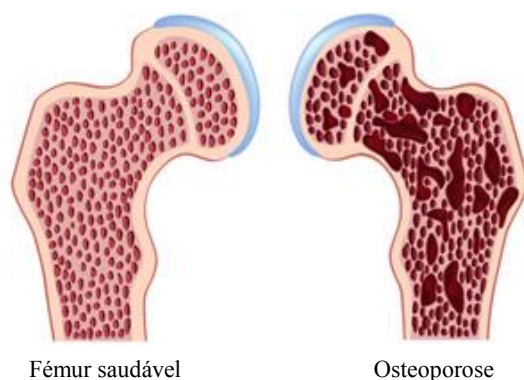


Figura 1.5 – Diferença entre um fémur saudável e com Osteoporose¹⁹

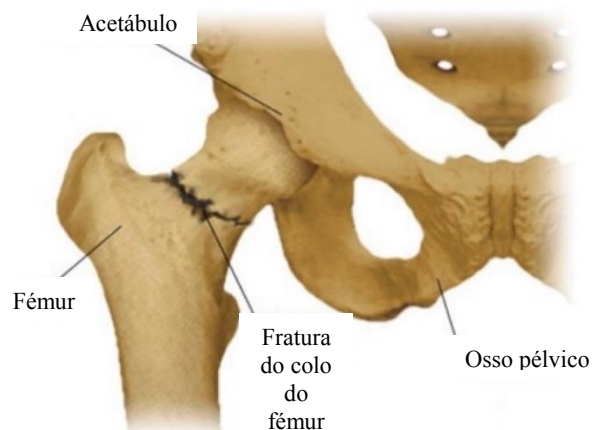


Figura 1.6 – Exemplo de uma fratura do colo do fémur²²

Quando falamos em Osteoporose, não podemos deixar de falar em Osteopenia, dado que estas duas patologias encontram-se ligadas, porque são semelhantes e ambas assintomáticas. Tal como a Osteoporose, a Osteopenia resulta de uma perda gradual degenerativa da densidade mineral óssea, pelo que a Osteopenia é o estado que precede a Osteoporose.⁷ Assim, na maioria dos casos, os indivíduos começam por apresentar Osteopenia e depois evoluem para o estado mais grave da doença, chegando à Osteoporose.^{2,7,8,23}

Atualmente, a Osteoporose, é vista como constituindo um problema de saúde pública, já que cada vez mais se verifica um aumento da população envelhecida que apresenta maior fragilidade óssea, maior suscetibilidade para o desenvolvimento desta patologia e, conseqüentemente, maior risco de fraturas que constituem uma das principais causas de morbidade e mortalidade.^{7,9}

Como a Osteoporose é uma doença esquelética onde existe um compromisso da resistência óssea, o seu principal fator de risco é a densidade mineral óssea (DMO) baixa. Esta pode estar relacionada com o aumento da idade e com a menopausa, dando origem à Osteoporose primária do tipo I. No entanto, sabe-se que existem outros fatores de risco para a diminuição da DMO, isto porque, como se trata de uma patologia multifatorial, o seu aparecimento e progressão têm por base fatores ambientais e genéticos.^{13,17,24} Assim, segundo a Fundação Internacional de Osteoporose (IOF), existem dois tipos de fatores de risco para a Osteoporose:^{25,26}

- Riscos modificáveis – são aqueles que dependem da vida/hábitos (nutricionais, físicos) e que podem ser modificados, como são o caso do estilo de vida, da inatividade física e dieta, do tabagismo e da deficiência de cálcio/fósforo e de vitamina D;^{25,26}
- Riscos fixos ou inatos – são os que não podem ser modificados (idade, gênero, predisposição genética).^{25,26}

Relativamente aos fatores genéticos, é possível saber-se que estes são responsáveis por 60-85% da variabilidade interindividual da DMO, apesar de as bases genéticas associadas a esta patologia não serem totalmente conhecidas.^{27,28} No entanto sabe-se que o metabolismo ósseo é regulado por diversos genes, em que uns apresentam um grau elevado de influência (genes *major*) e outros apresentam efeitos menores (genes *minor*). Assim, devido à complexidade da biologia do esqueleto, os genes de susceptibilidade para a Osteoporose são abundantes, destacando-se: a) os que estão envolvidos na regulação do metabolismo ósseo e do cálcio; b) os que codificam para as hormonas, fatores de crescimento e respetivos recetores; c) os que codificam para proteínas envolvidas em precursores moleculares de células ósseas.^{7,29,30}

Para além da Osteoporose primária, existem outras formas de Osteoporose, nomeadamente, a Osteoporose Secundária. Esta é a que aparece na maior parte dos casos devido a deficiência de vitamina D e cálcio, doenças metabólicas, endocrinológicas, gastrointestinais, do tecido conjuntivo, múltiplas doenças crônicas e uso de fármacos que podem afetar negativamente o metabolismo ósseo.^{7,9,31,32} Neste caso, as causas mais comuns variam consoante as características demográficas e o sexo, pelo que no homem, entre 30-60% das causas secundárias mais comuns são o hipogonadismo, os glucocorticoides e o alcoolismo, enquanto nas mulheres (perimenopausa), 50% dos casos estão associados ao hipogonadismo, tireotoxicose e aos anticonvulsivantes e nas mulheres pós-menopausa à anemia e às infeções.^{5,33}

Por fim, esta patologia apresenta algumas conseqüências para o seu portador, como são exemplo a diminuição da qualidade de vida, perda da capacidade de deambulação e de realizar atividades básicas (tomar banho e vestir), que acabam por ter um grande impacto na qualidade de vida do indivíduo. Isto leva a que a identificação de fatores associados à predisposição e desenvolvimento de Osteoporose sejam fundamentais para a prevenção da doença e para a descoberta de novas terapias.^{26,27,34}

1.2.1 Fisiopatologia da perda óssea

A remodelação óssea é necessária para que posteriormente ocorra uma homeostase saudável do cálcio e do fósforo, e conseqüentemente, para que haja uma reparação dos danos do osso que ocorreram com o avançar da idade. Isto leva a que a fisiopatologia da Osteoporose esteja relacionada com uma desregulação dos mecanismos de remodelação óssea, tanto pelo aumento de reabsorção óssea via osteoclastos, como pela diminuição da sua formação via osteoblastos.^{7,33,35}

Desde que nascemos o nosso esqueleto encontra-se em constante renovação, havendo durante a infância e a adolescência alterações no tamanho, na forma e na composição dos ossos, até à consolidação dos mesmos, que ocorre por volta dos 30 anos. A partir deste momento, o processo de remodelação óssea garante o equilíbrio do metabolismo do cálcio e do fósforo, possibilitando a reparação do osso que se encontra danificado.^{5,36,37}

No processo de remodelação óssea (Figura 1.7³⁸), existe a reabsorção/destruição do osso antigo pela ação dos osteoclastos¹ e a deposição/formação de osso novo pela ação dos osteoblastos. Este processo acontece após a ocorrência de microtraumatismos no osso, em que existe uma sinalização entre a matriz óssea e os osteoclastos. Este processo de reabsorção/deposição de osso é regulado por hormonas sistémicas e reguladores locais (o RANKL – *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* – e a OPG – osteoprotegerina, recetor solúvel “armadilha” do RANKL), e quando realizado corretamente, a quantidade de osso formada é igual à quantidade de osso reabsorvido.^{5,29,31,39}

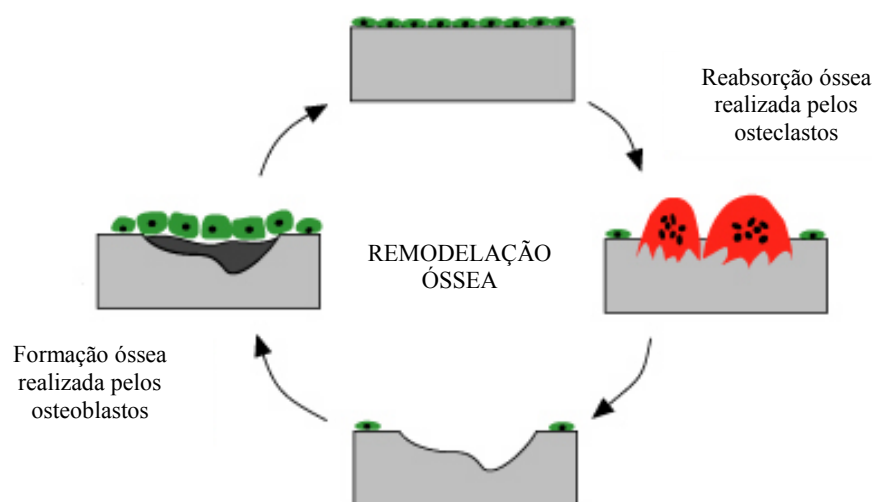


Figura 1.7 – Exemplo de um esquema simplificado de como ocorre a remodelação óssea. Durante a remodelação óssea, os Osteoclastos reabsorvem o osso danificado, enquanto os Osteoblastos repõem o osso que foi reabsorvido em quantidades iguais.³⁸

Para além dos osteoblastos e osteoclastos, existem os osteócitos, que são as células que desempenham um papel essencial na remodelação óssea. São estas células que regulam a ativação da remodelação óssea, realizando quer uma regulação positiva como negativa nos osteoblastos e osteoclastos. Isto acontece porque, quando estas células estão em apoptose, conseguem emitir mensagens sinalizadoras (transmitida pelo sistema lacuno-canalicular) para as células progenitoras e da superfície óssea, estimulando assim, o ciclo de reabsorção/formação óssea. Assim, os osteócitos desempenham um papel *major* na homeostasia do fósforo, acabando por ser importante para a mineralização óssea e para a secreção de fatores como o *fibroblast growth factor* (FGF).^{5,25,40}

Com o avançar do tempo e com os estudos realizados, tem-se percebido que, são as zonas formadas por osso “antigo” e altamente mineralizadas que são as mais suscetíveis a microfissuras, pelo que o processo de remodelação/formação de osso vai acontecer ao longo destas microfissuras, fortalecendo o osso. Isto leva a que a fase adulta seja a mais propícia a adquirir Osteoporose, já que, ocorre uma diminuição da DMO e existe uma fragilidade esquelética maior.^{2,40-42} Daqui resulta um baixo pico de massa óssea e/ou perda óssea excessiva (desequilíbrio entre a formação e reabsorção óssea que corresponde a 1% por ano na menopausa e 0,5% no envelhecimento), sendo esse pico mais frequente

¹ São originários das células estaminais hematopoiéticas e estão relacionadas com os monócitos e os macrófagos.

nas mulheres pós-menopáusicas e no envelhecimento.^{32,37,43} Sabe-se que na menopausa ocorre uma deficiência de estrogénios, proporcionando uma regulação positiva de RANKL nas células da medula óssea, e consequentemente, um aumento da reabsorção óssea.^{32,44,45}

1.2.2 Diagnóstico e fatores de risco

O método de diagnóstico mais usado e que avalia a DMO é a densitometria óssea de dupla absorção de raio-X (DXA). Esta técnica utiliza uma pequena quantidade de radiação (inferior à das radiografias convencionais), para avaliar o risco em vários locais do esqueleto, sendo os valores da coluna lombar e do fémur proximal os mais usados – são locais em que existe uma maior probabilidade de ocorrer perda óssea.^{41,46–48} Porém esta técnica tem limitações, porque a presença de osteomalacia pode menosprezar a matriz óssea total, por causa da diminuição óssea e porque a presença de osteófitos da osteoartrite, nos idosos, colaboram para a densidade, interferindo nos resultados obtidos. No entanto, o tempo de tratamento é incerto, devendo realizar-se a DXA no espaço de um a dois anos após o início do tratamento.^{7,9,46,47}

O diagnóstico e tratamento são indicados consoante o risco de fratura, que é calculado pela ferramenta FRAX® (*World Health Organization Fracture Risk Assessment Tool*). Esta ferramenta calcula e combina os fatores de risco com os resultados da DMO.^{40,49–51}

Com base nesta ferramenta, a OMS define Osteoporose nos adultos (Tabela 1.1), como os que apresentam uma DMO de pelo menos -2,5 desvios padrão abaixo do pico (definido como a DMO alcançada por jovens saudáveis da mesma etnia e género com idade entre 20 a 30 anos). A DMO varia entre diferentes locais do esqueleto, sendo expressa em T-score² e definida pelo desvio padrão (DP) a partir da densidade mineral óssea média com T-scores na coluna lombar ou na bacia de <-2,5.^{47,52,53} Esta definição aplica-se a mulheres (pós-menopausa) e a homens com idade igual ou superior a 50 anos. No entanto, para mulheres em pré-menopausa e homens com menos de 50 anos, recomenda-se a utilização do Z-score³, em que: a) se for inferior a -2,0 é definido como tendo “baixo DMO para a idade cronológica” ou “inferior ao limite esperado para a idade”; b) se for acima de -2,0 estão “dentro do limite esperado para a idade”.^{12,19,48,50}

Tabela 1.1 – Definição/Critérios de Osteoporose segundo a OMS⁵⁵

T-score	Classificação
≥ -1 DP	Normal
$-2,5$ DP a -1 DP	Baixa densidade mineral óssea (Osteopenia)
$\leq -2,5$ DP	Osteoporose
$\leq -2,5$ DP + fratura de fragilidade	Osteoporose Grave

DP - Desvio padrão; \leq menor ou igual; \geq maior ou igual.

Com o avançar dos estudos epidemiológicos, e com o objetivo de se incorporar uma tecnologia não invasiva para permitir uma melhor deteção/prevenção do risco de fraturas, desenvolveu-se um novo método denominado “trabecular bone score” (TBS). O TBS é um índice de textura derivado da imagem de DXA da coluna lombar, tendo como principal função fornecer um índice indireto da microarquitetura trabecular. A partir de estudos realizados em mulheres pós-menopausa e homens idosos, percebeu-se que um baixo TBS está associado a um aumento do número de fraturas prevalentes e incidentes. Percebeu-se ainda que, uma diminuição no desvio-padrão no TBS demonstra: a) um aumento de 20-50% no risco de fratura vertebral/anca/fratura de fragilidade total em mulheres pós-menopausa; b) confirma um aumento de 30-40% no risco de fratura das ancas/fraturas osteoporóticas *major* em homens

² O T-score é o número de desvios padrão acima ou abaixo da média para adultos saudáveis de 20-30 anos de idade, determinado pelo DXA.

³ Número de desvios padrão acima ou abaixo do DMO expectável para os doentes de acordo com a idade e o sexo.

idosos. Por último, através dos estudos realizados, a associação encontrada entre a TBS e o risco de fratura é independente da DMO definida pelo DXA central, pelo que é plausível o uso do TBS como uma ferramenta para avaliar o risco de fraturas na anca/osteoporótica (em mulheres pós-menopausa e homens com idade superior a 50 anos) e de fraturas vertebrais (em mulheres pós-menopausa).^{7,13,41,46}

É importante falar ainda da monitorização bioquímica do metabolismo ósseo, uma vez que este depende da medição de enzimas e proteínas libertadas durante a formação óssea e de produtos de degradação produzidos durante a reabsorção óssea. Existem múltiplos marcadores bioquímicos que permitem avaliar especificamente a taxa de formação e reabsorção óssea do esqueleto mas, no entanto, não são recomendados para o uso de diagnóstico. Porém, esses marcadores podem ser úteis em casos pontuais para melhorar a avaliação do risco de fratura individual.¹⁵ Alguns exemplos desses marcadores são os de formação óssea e os de reabsorção óssea, presentes na Tabela 1.2.¹⁵

Tabela 1.2 – Exemplos de marcadores de formação e reabsorção óssea e relação com a Osteoporose

Formação óssea (enzimas ou produtos de degradação da síntese de colagénio e proteínas da matriz)	Fosfatase alcalina ⁴ (total sérica e sérica específica do osso – fração óssea)	Enzima envolvida na mineralização da matriz óssea, que se encontra na superfície dos osteoblastos e é liberada no processo de formação óssea. Encontra-se elevada na presença de grande renovação óssea e diminuída em casos de baixa taxa de formação óssea. Na Osteoporose estes valores encontram-se dentro da normalidade, mas podem encontrar-se aumentados quando existe uma fratura ou quando existem outras doenças ósseas. ¹⁵
	Osteocalcina do soro	Proteína não colagénica da matriz óssea, sintetizada pelos osteoblastos, sendo um marcador específico para a atividade osteoblástica. Encontra-se aumentada na Osteoporose em geral, mas no caso das mulheres pós-menopausa encontram-se iguais/aumentados/diminuídos em relação aos controlos. ¹⁵
	Hormona da Paratiroideia (PTH)	Hormona que possui um papel importante na formação do osso, dado que aumenta indiretamente a proliferação dos osteoblastos através da regulação da homeostase do cálcio. ⁹ Estimula a formação óssea e aumenta a reabsorção do osso, pelo que se encontra aumentada na Osteoporose. ^{15,27}
Reabsorção óssea (enzimas osteoclásticas ou produtos de degradação do colagénio, libertados para a circulação)	Hidroxiprolina urinária	Aminoácido não essencial constituinte de proteínas e derivados da prolina. Não é um marcador específico da reabsorção óssea porque altera-se com a dieta. Encontra-se aumentada na Osteoporose. ⁹
	Piridinolina total urinária (PYD)	Formada durante a maturação extracelular e provém da reabsorção óssea. Os que se encontram presentes na urina podem ser medidos e não são suscetíveis à dieta, pelo que são bons indicadores de maior ou menor reabsorção óssea. Se houver maior reabsorção óssea é sinal que existe uma maior concentração de PYD na urina, sendo por isso um indicativo da doença. ¹⁵
	Colágeno urinário tipo 1 reticulado	O pró-colágeno produzido durante o processo de maturação do colágeno são liberados para a circulação e posteriormente são excretados pela urina. Tanto pode ser doseado no sangue como na urina. Encontra-se aumentado na Osteoporose, porque os fragmentos encontram-se aumentados na urina quando existe uma reabsorção óssea. ¹⁵

Existem outros doseamentos bioquímicos complementares que podem ser efetuados e que podem igualmente refletir alterações no metabolismo ósseo, como por exemplo, a vitamina D e K, o cálcio, o fósforo e os folatos/homocisteína.

⁴ Enzima codificada pelo gene, tecido não-específico AIP, localizado no cromossoma 1.

→ Vitaminas

As vitaminas são essenciais para o ser humano. Elas são nutrientes essenciais para o bom funcionamento de todo o organismo e garantem a saúde óssea através da manutenção da metabolização normal e da energia, ajudando na prevenção de múltiplas doenças. Para além disso, como as vitaminas são micronutrientes orgânicos que não são produzidos em quantidades suficientes pelo organismo, necessitam de ser ingeridos através dos alimentos (absorção intestinal).⁵⁶

Relativamente à Vitamina D, esta foi descoberta em 1922 e não tem a necessidade de uma fonte nutricional para os níveis normais no organismo se manterem. Esta vitamina pode ser ingerida através dos alimentos (peixe – óleo de fígado de bacalhau) e através da exposição à luz solar (raios UV-B), sendo posteriormente transformada na forma ativa de calcitriol. Algumas das funções mais importantes são as de desenvolvimento e manutenção dos ossos saudáveis, ajudando na correta absorção intestinal de cálcio e assegurando a renovação e mineralização óssea, musculatura periférica e equilíbrio.^{30,31,42,57}

No entanto nem sempre consumimos a quantidade certa de vitamina D, pelo que a sua deficiência nas crianças pode levar a um atraso no crescimento e a deformidades ósseas (raquitismo), enquanto que no adulto pode levar a doenças como a osteomalacia e Osteoporose. Isto leva a que seja necessário a sua toma através da dieta/suplementação como forma de prevenir certo tipo de patologias.^{57,58} Quando existe uma suspeita de deficiência desta vitamina, esta pode avaliar-se através da concentração plasmática da dosagem de 25 hidroxivitamina D (25(OH)D), estando em deficiência quando os valores de 25[OH]D são inferiores (<) a 20ng/mL.^{30,31,45}

Fazendo uma pequena relação entre a Osteoporose e a vitamina D, é possível verificar-se que um estudo realizado em 2016 sobre a associação entre o polimorfismo do gene do recetor da vitamina D (VDR) e a Osteoporose, mostrou que a ação da absorção intestinal de cálcio e fosfato é mediada pelo VDR. Posteriormente, o VDR liga-se à 1,25-di-hidroxivitamina D3 para realizar a regulação do desenvolvimento esquelético, manutenção da arquitetura esquelética e a secreção hormonal.⁵⁹ Deste estudo, os autores concluíram que num certo tipo de genótipo tinham DMO baixa. Por fim, a vitamina D também possui ações sobre o osso que se encontram relacionadas com a PTH, dado que esta vitamina necessita da PTH para desempenhar o seu papel no osso. Isto leva a que os pacientes que possuam uma fonte de vitamina D deficiente, possam adquirir hiperparatireoidismo secundário devido a uma incorreta mineralização óssea, apesar de atualmente esta doença ser rara.⁵⁸

Para além da vitamina D, existem as vitaminas K que também é importante no nosso organismo. Trata-se de uma vitamina lipossolúvel que possui um papel relevante na formação das proteínas que participam na coagulação sanguínea. Esta vitamina interage com o metabolismo da glicose, principalmente por causa da Osteocalcina, isto porque, é um co-fator essencial para que ocorra γ -carboxilação pós-traducional dos resíduos glutamyl. Pode ainda dizer-se que esta vitamina é importante na regulação da calcificação óssea e dos tecidos moles, crescimento e proliferação celular, cognição, inflamação, processos oxidativos, fertilidade, reparação de ossos e prevenção das doenças cardiovasculares.^{60,17,61}

→ Folatos

Quando se fala de Folatos, está-se a falar de um composto que é importante para a saúde e desenvolvimento do ser humano. No entanto, o ser humano não consegue sintetizar o ácido fólico que é obtido através da ingestão ou da toma de suplementos alimentares.^{62,63}

Os folatos (vitamina B9) são compostos que atuam como coenzimas para o metabolismo celular de um carbono e é importante para o metabolismo da remetilização da homocisteína. Os folatos são metabolizados pelo 5'10-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR)⁶⁴ e a sua deficiência, devido a restrições alimentares e má absorção, provoca alterações clínicas – como a anemia megaloblástica, o

atraso do crescimento e os defeitos congênitos.⁵⁶ A má absorção do folato intestinal pode ser condicionada por diversos fatores, como são o caso dos defeitos congênitos no sistema de captação – mutações no transportador de folato –, das doenças intestinais, da interação medicamentosa e do uso abusivo de álcool.^{56,65,66}

Sabe-se ainda que, os folatos possuem um papel fundamental nas diversas vias metabólicas, como é o caso daquelas que levam à síntese de ADN ou à conversão de homocisteína (HCys) em metionina e que posteriormente é usada para formar o S-adenosilmetionina (SAM, principal agente de metilação do ADN e de muitas outras moléculas, como a serotonina e as catecolaminas).^{28,66–68}

A biodisponibilidade dos folatos é um cofator relevante para o metabolismo do grupo metilo e pode ser adquirido nos alimentos (vegetais verdes, feijão cozido) sob a forma de 5-metil-tetrahidrofolato e de ácido fólico – forma sintética depois da suplementação.^{23,53,66,69}

→ Cálcio

O cálcio (Ca) é um dos elementos mais importantes do nosso esqueleto e é o mineral mais abundante no nosso organismo, percorrendo as vias da ingestão, digestão, excreção e trânsito intestinal. No corpo humano (fase adulta), o cálcio está presente em cerca de 99% do esqueleto, principalmente nos ossos e dentes na forma de minerais de hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), concedendo resistência/sustentação ao esqueleto e manutenção da concentração do cálcio sérico.^{57,69} O restante 1% encontra-se no sangue, fluido extracelular e tecidos moles, encontrando-se dividido em: 50% na forma ionizada; 40% ligado as proteínas não difusíveis; 10% iões de fosfato e citrato.⁷⁰

Para além do papel executado pelo cálcio no nosso esqueleto, este também exerce um papel essencial no funcionamento dos nervos e músculos, pelo que os níveis de cálcio no sangue necessitam de ser controlados. Isto leva a que, quando os níveis de sangue caem, as hormonas das paratireóides (PTH – produzidas pelas glândulas paratireóides) sinalize e o esqueleto comece a derramar cálcio para a corrente sanguínea, de forma a compensar as concentrações existentes no cálcio.^{44,57,71}

Assim, o esqueleto humano é visto como sendo um “reservatório” de cálcio, isto porque, desde que nascemos que possuímos cálcio no nosso organismo/ossos, dado que este elemento é essencial para a saúde óssea ao longo da nossa vida (principalmente na adolescência – momento em que aproximadamente metade da massa óssea é acumulada e por causa das alterações fisiológicas que ocorrem).^{4,7,57}

Relacionando o cálcio com a Osteoporose, é possível perceber-se que a combinação cálcio/vitamina D é um dos tratamentos mais usuais para a Osteoporose, dado que estes dois fatores estão estreitamente relacionados, uma vez que, quando existe deficiência de cálcio, recomenda-se a administração de vitamina D. Isto deve-se ao facto de a vitamina D facilitar a absorção de cálcio (se a administração de vitamina D for realizado isoladamente pode dar origem à hipercalcemia) e por isso quando se realizam terapias juntando vitamina D com os bisfosfanatos, existe uma melhora da homeostase do cálcio e da massa óssea nos indivíduos osteoporóticos. Por outro lado, quando se usa a combinação cálcio/vitamina D como medida de suplementação, verifica-se que em doentes osteoporóticos existe uma redução do risco de fraturas da bacia, com efeito significativo passado 18 meses.^{58,71,72}

→ Fósforo

O Fósforo (P) é fundamental para que haja um correto desempenho do nosso organismo e das suas funções fisiológicas e bioquímicas, já que é o segundo elemento mais abundante do nosso organismo. Este mineral encontra-se com frequência nos alimentos (animais e vegetais) sendo obtido através destes e posteriormente absorvido pelo organismo.^{70,73} No entanto, é necessário ter em atenção que a deficiência deste mineral no organismo humano pode acarretar diversos problemas de saúde,

nomeadamente maior ocorrência de fraturas, dores nas articulações, propensão para adquirir Osteoporose, problemas de crescimento, entre outros.⁶⁹

Este mineral encontra-se ainda em todas as células do organismo, é absorvido com a ajuda da vitamina D e está interligado com o cálcio, principalmente na homeostase do equilíbrio ósseo. Isto acontece porque, o fósforo fortalece os ossos e os dentes e quando é ingerido em doses certas (ou através da suplementação), ajuda na prevenção de doenças como a Osteoporose.⁷⁰ Este mineral ajuda ainda na formação da estrutura óssea e construção/manutenção do esqueleto, na formação de proteínas, na proteção muscular, no equilíbrio hormonal e para que haja um bom funcionamento do coração, cérebro e rins.⁶⁹ O fósforo atua ainda como um constituinte de fosfolípídeos estruturais nas membranas celulares, sendo necessário também para a absorção, deposição e utilização das gorduras que se encontram no organismo.⁷³

É ainda de notar que, para além do cálcio, o fósforo sob a forma de fosfatos, ainda se encontra em ligação com outros componentes, nomeadamente com o magnésio, pelo que, quando existe um distúrbio num destes componentes, também existe nos outros, dado que se encontram interligados.^{15,69,70} Por outro lado, para além da vitamina D – que aumenta as concentrações séricas do fósforo a nível ósseo, intestinal e renal –, o fósforo também se encontra relacionado com a PTH – diminui os níveis séricos do fósforo, através do aumento da excreção de fosfato nos rins e através da ativação das células osteoclásticas na mineralização óssea – e com a calcitonina – atua quando existem elevadas concentrações de fósforo sérico, promovendo a excreção pelos rins e ajudando a que haja deposição óssea pela inibição dos osteoclastos.^{27,70,73}

1.2.3 Metabolismo da Homocisteína

A homocisteína (HCys) foi descoberta em 1932 por Burtz e Du Vigneaud e o seu nome é específico para aminoácidos que contêm tiol. Vigneaud investigou o papel da homocisteína no metabolismo e a sua capacidade de substituir a metionina como um nutriente essencial para o crescimento de animais. Este aminoácido é um aminoácido sulfurado que pertence ao grupo SH (sulfidrílo) e é formado a partir da metionina derivada da dieta alimentar ou do catabolismo das proteínas/hepático que contêm este aminoácido, e pela desmetilação da metionina. Isto acontece porque, a HCys possui um grupo tiol e uma capacidade para fazer ligações peptídicas mais estáveis.^{74,75} Sabe-se também que a HCys regula a atividade/formação dos osteoclastos a partir do aumento de espécies reativas de oxigénio (ROS) e porque os níveis elevados deste componente encontram-se associados a um aumento da reabsorção óssea.⁷⁵⁻⁷⁷

A HCys plasmática, nos seres humanos, pode ser encontrada sob diversas formas, nomeadamente na forma reduzida (cerca de 1%), na forma livre maioritariamente oxidada (entre 20%-30%), e quando está ligada a proteínas plasmáticas como a albumina/hemoglobina (entre 70%-80%), sendo que 0,4% da HCys oxidada (HCys tiolactona) é a mais ativa nas ações desfavoráveis da HCys. No entanto, o equilíbrio intracelular apenas é mantido quando existe uma migração de HCys para o meio extracelular.^{74,78} Note-se que os valores plasmáticos/urinários⁵ são importantes para que se possa perceber se existe uma regulação/disfunção da síntese celular e uma boa integridade das vias metabólicas.^{75,79,80}

Pode-se dizer que a HCys e a sua concentração plasmática: a) danificam as células e os tecidos de artérias, estimulando a libertação de citocinas, ciclinas e outros mediadores de inflamação e divisão celular; b) podem ser tóxicos em quantidades elevadas e consequentemente aumentar a reabsorção óssea; c) são influenciadas por fatores não genéticos/fisiológicos (idade⁶, género, ambiente, dieta) e por

⁵ Valor de referência para HCys plasmática é de 6-12mmol/l para mulheres e 8-14mmol/l para homens.

⁶ Os homens possuem valores superiores de HCys do que as mulheres, mesmo em idades de pós-menopausa.

fatores genéticos individuais; d) níveis elevados de HCys interferem na formação do colagénio durante o processo de formação óssea mas, no entanto, este aumento tem como causas principais o envelhecimento, a falta de vitamina B, a insuficiência de folato e o estilo de vida do indivíduo.^{79,81-83}

No que diz respeito às alterações do ciclo folato/HCys e entre o ciclo de folato e o da metionina, sabe-se que estas encontram-se relacionadas com deficiências congénitas que estão associadas a modificações das enzimas envolvidas na sua metabolização, principalmente o β -sintetase da cistationina (C β S), o redutase do dihidrofolato (DHFR), o redutase do metilenotetrahidrofolato (MTHFR) e a S-Transferase do Glutathione (GST).⁷⁷⁻⁸⁰

Para se perceber a interação entre estes ciclos e as interações enzimáticas presentes anteriormente, é necessário perceber/entender como ocorre o metabolismo da homocisteína, sendo que este envolve duas vias metabólicas, como podemos observar na Figura 1.8⁸⁴:

- Via da remetilação/transmetilação – a HCys é remetilada ganhando um grupo metil do 5-metil-tetrahidrofolato (5-metil-THF) e posteriormente convertida em Me, através da ação da sintetase da metionina (MS – enzima dependente da vitamina B12)⁷⁴; a reação de 5-metil-THF surge em todos os tecidos e encontra-se dependente da vitamina B12; esta reação pode ainda ocorrer através do grupo metilo da betaína (metiltransferase – usada na metilação de ADN, síntese de lipídios) independente da vitamina B12;⁷⁶ quando existe um comprometimento da via da remetilação da HCys, existe aumento da concentração do aminoácido no plasma;⁸⁵
- Via da transsulfuração – a HCys é catabolizada em cisteína (reação irreversível), através da ação da enzima C β S e da cistationina γ -liase, cujo cofator é a vitamina B6 (piridoxal 5 fosfato); quando existem alterações nesta via, como a deficiência de C β S, existe uma sobrecarga da metionina no sistema, proporcionando concentrações elevadas de homocisteína plasmática e doenças como a hiperhomocisténemia⁸⁶; esta via é favorecida por causa da formação de cisteína e glutathione, pelo que, em condições oxidativas existe um aumento da sobrecarga oxidante catabolizada pela C β S e uma diminuição da desmetilação, para que se mantenha o *pool* intracelular de glutathione, sendo este processo denominado de auto-regulação redox.⁸⁷

Sabe-se que a HCys surge a partir do metabolismo da metionina, devido à sua ativação pela enzima S-adenosilmetionina (SAM) através da ação da enzima da metionina adenosiltransferase. Note-se que o SAM é o principal doador de grupos metilo mais importantes no organismo humano.^{74,75,88} Quando existe um aumento do folato através da dieta/suplementação, existe também um aumento de 5-metil-tetrahidrofolato (5-MTHF) e consequentemente um aumento de SAM do ciclo da metionina, proporcionando um aumento da atividade da via de transsulfuração (aumento da C β S) e inibição da desmetilação. Daqui pode-se inferir que a SAM é um inibidor da MTHFR e um ativador da C β S, e que o metabolismo folato/HCys é importante para que ocorra metilação/reparação de ADN e para a síntese de nucleótidos.^{77-80,87,89}

No metabolismo folato/HCys encontra-se ainda a enzima DHFR que também é importante, dado que é o que se encontra responsável pela redução do ácido fólico a dihidrofolato (DHF) e deste a tetrahidrofolato (THF). O THF é a forma metabolicamente ativa que participa neste metabolismo.⁸⁹

O GST também é importante, porque é o que tem a função de regular a conversão de compostos tóxicos em metabólitos hidrofílicos e é responsável pela metabolização de xenobióticos e oxidantes reativos, através da conjugação com o glutathione⁷ reduzido (GSH).⁹⁰⁻⁹²

⁷ Antioxidante e cofator enzimático que existe em grandes concentrações no interior das células.

fraturas.^{81,92,93} É importante notar que também existem fatores genéticos – como as mutações na CβS e na MTHFR – que podem interagir com a via da HCys e que se encontram relacionados com esta doença.^{92,93}

Um desses estudos foi realizado por Kanazawa e demonstrou que, quando esta doença é induzida pela dieta, existe uma diminuição da qualidade do osso, isto porque, a HCys afetou as células osteoblásticas e estromais da medula óssea. Daqui percebeu-se que a HCys provoca uma apoptose das células osteoblásticas e dos osteócitos (leva ao aumento das expressões de NADPH), através do aumento da sobrecarga oxidante, prejudicando a viabilidade e a função dos osteoblastos e dos osteócitos, e provocando uma diminuição da formação/reabsorção óssea e uma fragilidade óssea induzida pela HCys.^{81,96}

No entanto, é importante salientar que a HCys é um fator de risco independente para outras patologias, como são exemplos a Diabetes *Mellitus*, a doença cardiovascular, os defeitos no nascimento, a doença de Alzheimer e a insuficiência renal, pelos que nestes casos, existe uma associação com o stress oxidativo. Isto acontece porque, espécies reativas de oxigénio (ROS) podem levar a uma tensão do stress redox e posteriormente causar lesões nas células.^{7,75,80,95}

1.2.4 Metabolismo ósseo e relação com o metabolismo glicídico

O metabolismo ósseo e o da glicose estão em constante associação⁸¹, pelo que é necessário entender como é que estes metabolismos se influenciam mutuamente e como é que se relacionam com a Osteoporose.

Para que isso seja possível é necessário realizar-se uma análise sobre essa inter-relação, dado que, o osso é um órgão endócrino e desempenha papéis importantes na regulação do metabolismo energético, nomeadamente na sinalização da insulina e na tolerância à glicose.^{98,99} É importante salientar que a Diabetes *Mellitus* (DM) surge de uma desregulação do metabolismo da glicose e é um fator prejudicial à saúde óssea e para o aumento do risco de fraturas osteoporóticas (fragilidade óssea induzida por DM), tratando-se também de uma relação entre estes dois metabolismos.^{81,98}

O metabolismo da glicose é regulado por um sistema fisiológico complexo dependente da interação de hormonas sob órgãos-alvo, sendo a insulina uma das hormonas que mais papéis desempenha no nosso organismo e que mais contribui para a homeostase da glicose.¹⁰⁰ A insulina é uma hormona peptídica sintetizado pelas células β pancreáticas e liga-se a recetores de tirosina quinase expressos nos hepatócitos, nos adipócitos, no mioplasma e nas células – como por exemplo os osteoblastos. As principais funções da insulina são a ativação da remodelação óssea (importante para o crescimento celular), a captação da glicose no tecido adiposo e músculo, e a supressão da gliconeogenese no fígado. Estas ações têm como resultado final a diminuição da glicose no sangue, permitindo a que haja uma regulação da homeostase da glicose no organismo, através da ligação ao recetor da insulina (IR).^{8, 61} É necessário notar-se que a insulina e a sua via de sinalização são relevantes para que ocorra a diferenciação osteoblástica, a síntese de colagénio e a formação óssea, pelo que se pode verificar como é que a insulina e, consequentemente, o metabolismo da glicose, se encontram em interação com o osso e com a formação deste.⁸¹

Quando a síntese e libertação de osteoprotegerina é inibida, existe uma sinalização da insulina sob os osteoblastos, favorecendo a diferenciação dos osteoclastos. Isto deve-se ao facto de a insulina inibir/diminuir a OPG (recetor solúvel do RANKL – recetor de ativação do NF-κB que liga o ligando RANKL), o que vai levar a que haja mais produção de RANKL pelos osteoclastos, uma ativação dos osteoblastos e mais diferenciação. Quando o RANKL é caçado pela OPG, este não se vai ligar aos seus recetores nos osteoclastos, levando a que haja uma diminuição da atividade dos osteoclastos.^{100,101}

⁸ Foi identificada em 1971 e é uma glicoproteína situada na membrana plasmática das células-alvo.

Assim, múltiplos estudos conferem que a insulina é relevante para que ocorra a formação óssea e o desenvolvimento do osso, dado que, os osteoblastos contêm um recetor de insulina e porque a insulina provoca a disseminação/diferenciação destas células.^{81,98}

Abordando a Glicose, pode dizer-se que esta é uma fonte de energia que se encontra na maioria das células e é transportada através de proteínas transportadoras presentes na membrana – transportadores de glicose (Glut) via difusão facilitada e pelos transportadores de glicose acoplados ao sódio (SGLTs) –, independente da concentração de ATP.^{61,102} A glicose é ainda metabolizada no citoplasma pela glicólise, produzindo posteriormente duas moléculas de piruvato, duas moléculas de ATP e duas moléculas redutoras de nicotinamida adenina dinucleotide (NADH). A glicose encontra-se presente no osso humano porque os recetores de Glut estão expressos no osso e são sensíveis à insulina, pelo que a insulina acaba por aumentar a captação via Glut1 no osteoblasto. Para além do Glut 1 existe o Glut4 que também se encontra nos osteoblastos, osteócitos e condrocitos, ajudando no transporte/entrada da glicose ativa. Assim o Glut é necessário para que ocorra a formação óssea e para que haja uma correta homeostase da glicose no organismo.^{61,102,103}

Quando falamos do metabolismo da glicose e da interação óssea, é necessário termos em conta o papel da hormona da paratiroideia (PTH), dado que, no seu estudo, Hamann⁶¹ mostrou que em ratos a PTH não possuiu efeito no peso corporal e na tolerância à glicose, mas quando esses ratos foram suplementados com PTH passou a haver efeitos anabólicos no osso.

Os metabolismos da glicose e ósseo encontram-se relacionados principalmente por causa da Osteocalcina (OC), que é expressa em células da linhagem dos osteoblastos (maduros) e posteriormente secretada do osso para o meio extracelular (matriz óssea) e depois para a circulação (forma descarboxilada). A OC é ainda usada como um marcador de formação óssea em estudos clínicos (Figura 1.9⁸¹).^{81,104} Esta proteína não colagénia foi isolada em 1975/1976 por Hauschka et al. 1975 e Price et al. 1976⁸¹, possui 49 aminoácidos, contêm três resíduos de ácido carboxiglutâmico G dependentes das ações da vitamina K e existe na circulação sob três formas.^{81,105}

- Totalmente carboxiladas (tOC) – regula a posição do osso; possui maior afinidade pela hidroxiapatita⁹ e encontra-se relacionada com a regulação dos osteoblastos e osteoclastos, pelo que representa a quantidade total da proteína sintetizada pelo osso; liga-se ao cálcio e controla a mineralização;^{60,96,101,103,105}
- Parcialmente carboxiladas ou sub-carboxiladas (ucOC) – usada como um biomarcador do estado da vitamina K e é visto como sendo uma forma de determinar o risco de fratura da bacia nos indivíduos saudáveis;^{60,96,101,103,105}
- Não carboxiladas/d Descarboxiladas – forma que regula a homeostase da glicose na matriz óssea através da ligação aos recetores GPCR36 (g protein coupled receptor); a descarboxilação da OC acontece devido à atividade dos osteoclastos, sendo nesta fase que a OC passa para a circulação.^{60,96,101,103,105}

Esta proteína também se encontra envolvida no metabolismo da glicose (Figura 1.9⁸¹), dado que medeia a secreção de insulina do pâncreas, possui um efeito positivo sobre a secreção da adiponectina a partir das células adiposas, e porque estimula a expressão da insulina na célula β e a sua proliferação.^{81,96,102,106} A OC possui diversas funções no organismo humano, nomeadamente a nível da manutenção óssea com ligação ao metabolismo energético, pelo que um aumento no nível sérico da OC encontra-se ligado a um aumento da DMO.^{81,102}

Existem diversos estudos sobre o uso da OC, principalmente em animais, que mostram que as relações músculo-gordura, podem ter como base a OC circulante.^{96,106} Um estudo realizado por Karnesty⁶⁰ mostrou, através de análises sobre a expressão génicas de linhagens de células que estavam

⁹ Composto mineral insolúvel formado principalmente por cálcio e fosfato, que forma a estrutura óssea.

envolvidas na produção de insulina, que estas aumentavam quando eram tratadas com OC, permitindo concluir-se que esta hormona aumenta a expressão dos genes da insulina e que pode regular a proliferação de células β .⁶⁰ Um outro estudo realizado por Kindblom *et al*⁸¹, deu conta que os níveis totais de OC encontravam-se inversamente correlacionados com os níveis plasmáticos de glicose e de massa gorda na população idosa que não apresentava diabetes.⁸¹

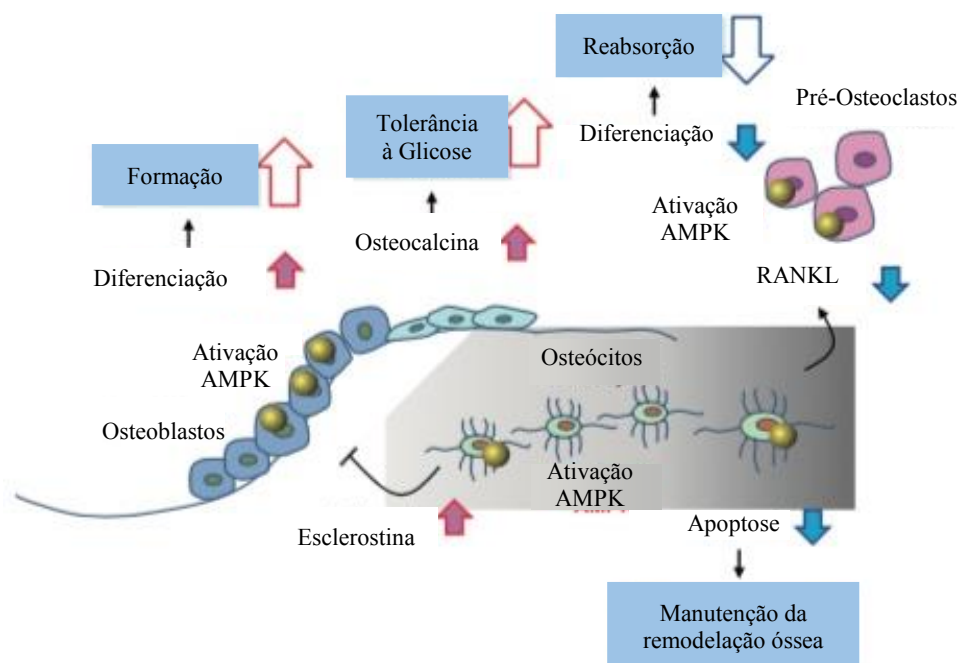


Figura 1.9 – Esquema representativo da manutenção da remodelação óssea.

A proteína quinase ativada por AMP (AMPK) regula o metabolismo ósseo. A ativação do osteoblasto AMPK estimula a diferenciação e mineralização dos osteoblastos, o que aumenta a formação óssea. O osteoblasto AMPK aumenta a expressão da osteocalcina, que regula o metabolismo da glicose. Osteócito AMPK protege contra a apoptose induzida por stress oxidativo dos osteócitos, levando à manutenção da função dos osteócitos e à remodelação óssea. Ativação dos osteoclastos AMPK inibe a diferenciação dos osteoclastos, suprimindo a reabsorção óssea. Adaptado de Kanazawa, 2017⁸¹

Relativamente à associação deste metabolismo com a Osteoporose, pode dizer-se que esta acontece essencialmente quando os indivíduos apresentam DM. Isto acontece porque a DM permite que os indivíduos possuam uma menor qualidade óssea e por isso sejam mais suscetíveis a adquirir Osteoporose do que os indivíduos com uma saúde normal.¹⁰⁶ Pode ainda dizer-se que a remodelação óssea e o apetite podem ser regulados pelas mesmas hormonas, dado que, estudos mostram que o índice de massa corporal baixo aumenta a perda óssea e é um fator de risco para a Osteoporose.⁹⁸

Assim, pode-se concluir que, estando estes metabolismos relacionados, os problemas que acontecem num metabolismo perturbam o outro, ou seja, quando existem perturbações no metabolismo da glicose, o esqueleto também vai ter problemas.^{96,99,100} É possível concluir-se ainda que a reabsorção óssea é essencial para o metabolismo da glicose, dado que os osteoclastos aumentam a reabsorção, os níveis séricos de OC e a tolerância da glicose. Por fim, a OC poderá ser usada como forma de tratamento para diversas doenças, como o caso da Osteoporose, da obesidade, da resistência à insulina e da diabetes, pelo que é necessário um contínuo estudo para assim se obterem novas perspetivas de tratamento e perceber-se melhor o papel preciso da OC em humanos.^{60,98}

1.2.5 Metabolismo ósseo e relação com o metabolismo lipídico

O metabolismo do osso e dos lipídios encontram-se em constante interação, pelo que é importante evidenciar como é que os lipídios se relacionam com a patogénese da perda óssea, nomeadamente nas células ósseas (inibição osteoblástica e promoção osteoclástica).¹⁰⁷ Para que tal seja possível, é necessário fazer uma pequena introdução aos lipídios e perceber como é que os lipídios e o osso se relacionam.

Os lipídios biológicos podem ser encontrados sob a forma de triglicerídeos, colesterol, ácidos gordos, fosfolípidios e hormonas esteroides e são transportados na circulação sanguínea para os tecidos periféricos através de lipoproteínas.^{107,108} No entanto é de salientar que existem diversos fatores que interferem nos níveis lipídicos em circulação, como é o caso da ingestão alimentar, da taxa de eliminação e da biossíntese celular. Estes fatores proporcionam uma possível deficiência de apoE ou do recetor das LDL e um aumento dos níveis de lipoproteínas circulantes, dando origem a doenças, como é o caso da aterosclerose.¹⁰⁹ Por outro lado, quando os níveis lipídicos estão normalizados, estes podem proteger contra doenças, como é o caso do colesterol das HLD que protegem contra as doenças cardiovasculares.^{107,108,110} Relativamente aos meios de transporte específico de alguns dos lipídios mais importantes, estes são:

- Triglicerídeos ingeridos, são absorvidos no intestino e posteriormente passam para a circulação através dos quilomícrons¹⁰. Já os que são sintetizados pelo fígado são transportados por lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) que possuem apolipoproteínas E (apoE);^{107,108,110,111}
- Colesterol é transportado por lipoproteínas de baixa densidade (LDL), contendo a apoB 100 reconhecida pelo recetor de LDL;^{107,108,110,111}
- Resíduos solúveis em gordura (processo denominado de transporte reverso de colesterol) que posteriormente vão ser excretados pela lipoproteína de alta densidade (HDL).^{107,108,110,111}

Os lipídios encontram-se estreitamente relacionados¹¹ com o osso pois são importantes para o metabolismo esquelético e para uma boa saúde óssea, já que delimitam a permeabilidade radial do osso cortical e porque as lipoproteínas transportam vitaminas lipossolúveis (como a vitamina D e K¹²) que, como vimos anteriormente, são relevantes no metabolismo ósseo.¹⁰⁷ Esta relação acontece ainda, porque a gordura e o osso partilham uma célula progenitora, as células-tronco mesenquimais multipotentes (MSC) na medula óssea. Estas células-tronco mesenquimais diferenciam-se em diversos fenótipos celulares, como é o caso dos adipócitos – o seu aumento provoca uma diminuição da DMO e de perda óssea em pessoas com Osteoporose.¹⁰⁸

Outro elemento que permite dar conta desta relação é a vascularização presente durante a formação óssea, dado que esta se encontra associada com os vasos, que posteriormente vão ser revestidos pela matriz subendotelial. Outro fator presente nesta relação é a de, como os lipídios podem ser transportados no tecido ósseo, podem acumular-se nessa matriz, levando a que as células progenitoras dos osteoblastos possam estar expostas às lipoproteínas.¹⁰⁷ Assim, os osteoblastos produzem e secretam lipídios, podendo causar oxidação enzimática das lipoproteínas, pelo que o próprio osso pode formar lipídios oxidados (processo distinto do armazenamento no tecido adiposo) e originar um microambiente inflamatório, caso esses lipídios se acumulem durante muito tempo.¹⁰⁶⁻¹⁰⁹

¹⁰ São lipoproteínas formadas nas células do epitélio intestinal a partir das gorduras da dieta e secretadas na linfa mesentérica através da qual alcançam a circulação sanguínea.

¹¹ O primeiro estudo sobre este tema foi realizado em 1963.

¹² Ativa a gama-carboxilação da osteocalcina e a proteína GLA da matriz que são reguladores da maturação mineral importante para a formação do osso.

Note-se que existe perda da massa óssea devido aos lipídios inflamatórios e sobrecarga oxidante, dado que estes inibem a diferenciação osteoblástica e aumentam a diferenciação osteoclástica, como podemos ver na Figura 1.10¹⁰⁷. É de salientar ainda que existem estudos *in vitro* que mostram que os lipídios/lipoproteínas modificadas inibem a diferenciação osteoblástica, a atividade da fosfatase alcalina e a deposição de cálcio na matriz.^{107,109}

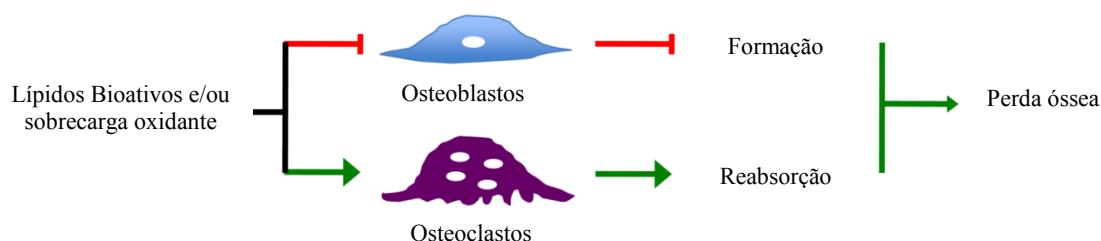


Figura 1.10 – Ações dos lipídios e da sobrecarga oxidante sobre o crescimento ósseo.

A geração de stress oxidativo e a inibição da diferenciação osteoblástica leva à diminuição da formação óssea e à promoção da diferenciação osteoclástica, proporcionando um aumento da reabsorção óssea e consequentemente uma perda óssea. Adaptado de Tintut Y. & Demer L.L, 2014¹⁰⁷

Posto isto, os lipídios encontram-se associados à Osteoporose por causa de alterações metabólicas relacionadas com patologias como a Hiperglicemia – promove a indução adipogénica das células estromais, que nos indivíduos diabéticos aumenta o risco de perda óssea e de fratura –, a Hiperlipidemia – altos níveis de colesterol total (> 240 mg/dl), colesterol das LDL (> 160 mg / dl) ou triglicéridos (> 200 mg/dl) segundo a *American Heart Association* – e a dislipidemia – com níveis baixos de HDL (<40 mg/dl em homens e <50 mg/dl em mulheres).^{107–109} No caso da Hiperlipidemia, estudos demonstram que as mulheres pós-menopausicas possuem uma menor DMO nos ossos lombares e do fémur e maior risco de Osteopenia que as que têm níveis lipídicos normais, pelo que a hiperlipidemia pode estar associada à Osteoporose.^{107,108} Note-se ainda que a relação entre os lipídios e a DMO acontece maioritariamente em indivíduos que possuem doenças cardiovasculares e naqueles que possuem suscetibilidade genética para a hiperlipidemia.^{107–109}

No estudo desta relação é ainda importante notar o papel da Osteoprotegerina¹³ (OPG), dado que esta, é um ativador do recetor do fator nuclear κB (NF- κB) e ligante (RANKL) que existe no metabolismo ósseo e é um regulador da osteoclastogénese.^{107,108,110} A OPG inibe a osteoclastogénese através da ligação ao RANKL, fazendo com que este não se ligue ao recetor ativador do NF- κB nos osteoclastos, pelo que as vias de RANKL/RANK/OPG são indispensáveis para que ocorra a remodelação óssea.^{107,110} No entanto, os valores dos níveis séricos da OPG aumentam com a idade, pelo que é visto como um neutralizador da aceleração da reabsorção óssea.^{108,110,112}

Os lipídios inflamatórios podem ainda interferir com o processo de tratamento da Osteoporose, como é o caso do anabolizante ósseo da hormona paratiroideia (PTH), isto porque induzem a expressão de RANK e suprimem a diferenciação celular do estroma da medula óssea em osteoblastos.^{107,111,112} No caso da terapia com estrogénios no tratamento da Osteoporose, estudos mostram que esta terapia reduziu os níveis de Colesterol_{Total} e de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), havendo também uma relação entre o metabolismo lipídico e a Osteoporose.¹⁰⁸

É necessário notar-se que os estudos sobre esta relação são contraditórios, pelo que são necessários mais estudos nesta área. O estudo realizado por H Saghafi *et al*, demonstrou que o perfil lipídico encontra-se inversamente associado à DMO e, consequentemente, à Osteoporose em mulheres na pré e

¹³ Glicoproteína solúvel que se encontra associada ao recetor do fator de necrose tumoral (TNF) e é expressa nos ossos, coração e artérias. Esta glicoproteína liga-se ao fator da ativação ou ligando do recetor ativador do NF- κB (RANKL), pelo que é um recetor solúvel do RANKL.

pós-menopausa, havendo um efeito negativo das LDL sobre o metabolismo ósseo.¹¹⁰ Outro estudo realizado por Makovey *et al*, deu conta que a DMO estava correlacionada negativamente com o colesterol_{Total} e LDL-C principalmente em mulheres na pós-menopausa.^{107,109,111}

Assim, pode-se concluir que é possível uma associação entre o metabolismo do osso (e consequentemente da DMO) e o perfil lipídico, principalmente quando a população analisada são mulheres na pós-menopausa, com idade superior a 50 anos e com diabetes, já que a idade e os valores de IMC são condicionantes para a redução da DMO.^{110,111} Por fim, é necessário o esclarecimento sobre a forma de como os alvos celulares e os mediadores moleculares dos lipídios bioativos podem possibilitar novas terapêuticas farmacológicas¹⁰⁷ como forma de prevenção/tratamento de doenças como a Osteoporose, pelo que são necessárias mais investigações na população humana.^{107,108}

1.2.6 Relação entre a Osteoporose e a Obesidade

A obesidade ocorre por causa de um desequilíbrio, em que a ingestão de energia é superior ao dispêndio da mesma durante um longo período de tempo.¹¹³ No entanto, existem vários fatores que podem influenciar a obesidade, como são exemplo, o ambiente, a nutrição e as hormonas que influenciam o peso corporal – como é o caso das mulheres na pós-menopausa, que quando obesas são frequentemente afetadas pela hipertensão arterial, DM¹⁴ e doenças cardiovasculares.^{81,106,114} Existem ainda estudos que demonstram que, um elevado peso corporal/índice de massa corporal (IMC), está associado a uma massa óssea elevada e que uma diminuição do peso pode provocar perda de massa óssea. Assim, a massa gorda e a massa magra estão relacionadas com a DMO, o que parece conferir proteção contra a perda óssea após a menopausa.^{102,114}

Daqui, pode inferir-se que, existe possivelmente uma relação entre a gordura e o osso, proporcionando-se um controlo homeostático. Isto permite que as mulheres com um elevado índice de massa corporal (25-29,9 kg/m²) estejam protegidas contra a Osteoporose, apesar de existirem dados que sugerem que a obesidade (índice de massa corporal>30) pode realmente interferir na saúde do osso.⁸¹ Por fim, é necessário notar-se que os níveis de homocisteína encontram-se aumentados nos pacientes que possuem Diabetes *Mellitus*, estando estes associados a uma maior incidência de fraturas. Isto acontece porque, existe um prejuízo das funções dos osteoblastos e osteócitos que vão promover uma diminuição da formação óssea e da remodelação óssea.^{81,102,113,115}

1.2.7 Epidemiologia e custos associados

A Osteoporose afeta cerca de 200 milhões de mulheres, principalmente as que apresentam idade igual/superior a 60 anos, e causa mais de 8,9 milhões de fraturas por ano (aproximadamente uma a cada 3 segundos). Estima-se que em 2050 a fratura da bacia nas mulheres aumente 240% e nos homens 310% em relação às percentagens de 1990.^{21,57,116} Na Europa, EUA e no Japão, esta doença afeta cerca de 75 milhões de indivíduos.⁵⁵

No caso Português, existem diversas estimativas para a prevalência da Osteoporose na população. Para a Organização Mundial de Saúde, esta é de 10,2%^{55,117}, sendo que para as mulheres é de 17% e para os homens é de 2,6%¹¹⁸. Já para a Sociedade Portuguesa de Osteoporose e Doenças Ósseas Metabólicas (SPODOM), a Osteoporose afeta cerca de 500 mil portugueses. Assim, apesar de existirem diversos estudos sobre a prevalência da Osteoporose em Portugal, ainda não existe uma coerência dos valores de Osteoporose para a população Portuguesa.^{21,55,118}

No entanto, de acordo com a Acta Reumatologica Portuguesa (2018), entre 2011 e 2013, a prevalência de Osteoporose em indivíduos com idades superiores a 18 anos foi estimada em 10,2%

¹⁴ Existe uma diminuição do número de osteoclastos devido a uma secreção incomum da insulina.

(17,0% para as mulheres e 2,6% para os homens), encontrando-se em acordo com os dados da OMS.⁷ Neste estudo, estima-se que em Portugal haja anualmente um aparecimento de 40,000 fraturas osteoporóticas, sendo que ao longo dos anos este número tem vindo a aumentar mais (5,600 em 1989, 8,500 em 2000 e 10,124 em 2011).^{7,119}

Um outro estudo foi realizado em 2010 pela Fundação Internacional de Osteoporose (IOF) e pela Federação Europeia das Associações da Indústria Farmacêutica. Este estudo foi realizado com o intuito de se estudar esta epidemiologia no nosso país e o seu respetivo custo, tendo-se analisado cerca de 59000 indivíduos com Osteoporose (critérios da OMS) com mais de 50 anos.^{6,21,26,120} Desses indivíduos, houve uma incidência de fraturas de cerca de 52000, em que 30% ocorreram em homens e 70% em mulheres.^{42,117,119} Deste estudo foi ainda possível concluir-se que grande parte dos óbitos por causa da Osteoporose ocorreram devido ao elevado custo dos tratamentos (farmacológicos ou não), já que em Portugal, apenas 4,5-14,4% dos pacientes recebem tratamento osteoporótico.^{7,121}

Quando fazemos uma análise do custo do tratamento osteoporótico, é necessário perceber que este encontra-se dividido em três partes, nomeadamente:^{7,9,31,121} a) o custo das fraturas que ocorreram durante o ano; b) o custo das fraturas causadas no ano anterior, mas que ainda apresentam custo no ano presente; c) o custo da administração e monitorização dos fármacos para medidas de prevenção.¹¹⁷ Assim, em 2010, no tratamento osteoporótico, gastaram-se 293 milhões, 264 milhões e 20 milhões de euros em cada uma das categorias mencionadas anteriormente, tendo-se gasto 577 milhões de euros no total. Por fim, o estudo conclui ainda que em 2025 o custo desta patologia aumentará para 717 milhões de euros e que serão os homens que apresentarão mais fraturas.^{116,117,122}

Por fim, é possível afirmar-se que, de acordo com os dados obtido até então, a Osteoporose possui um grande custo quer a nível pessoal quer a nível socioeconómico.

1.3 Polimorfismos genéticos em análise

Antes de se abordarem os polimorfismos genéticos que vão ser analisados, é necessário saber/perceber o que se entende por polimorfismos genéticos e como é que estes interagem com a saúde humana.

No genoma humano, considera-se que existe um polimorfismo quando as variações de ADN presentes numa dada população, apresentam uma frequência superior a 1%. Isto acontece porque, no genoma humano, existem sequências de ADN que não codificam proteínas e outras em que ocorrem múltiplas variações, que são vistas como sendo “regulares”.¹²³ Sabe-se ainda que o polimorfismo pode influenciar a expressão genética – diminuição/aumento da quantidade de proteína que é codificada por esse gene – provocando alterações no local de ação das enzimas de restrição (através da criação/destruição desses locais), que por sua vez vão originar fragmentos de ADN de diversos tamanhos. Normalmente, estes fragmentos são detetados através da análise do polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP).¹²³

Os polimorfismos que se encontram no genoma humano podem estar envolvidos em diversos ciclos metabólicos – alimentar, resposta inflamatória, toma de medicamentos – e podem variar com as diferentes étnicas, com o consumo de tabaco, com a exposição solar, entre outros fatores. Estes fatores são importantes na determinação para a suscetibilidade de doenças – como é o caso do cancro – e na resposta ao seu tratamento.^{123,124}

Normalmente, as trocas mais comuns nestes polimorfismos são as que advêm de trocas de transição – uma purina por outra purina (A>G) ou de uma pirimidina por outra pirimidina (C>T) –, sendo que as trocas de transversão de uma purina por uma pirimidina (C/T>A/G) e vice-versa são pouco frequentes. Estas transições podem advir de erros/mutações de duplicação/recombinação de ADN e da falha na reparação da molécula danificada, sendo chamados de Polimorfismo de Nucleótido Único (SNP –

Single Nucleotide Polymorphism). Note-se que estas mutações podem passar de geração em geração e podem ser detetadas através da análise de qualquer célula presente no organismo.¹²⁵

Os SNP são qualificados pela substituição de um único nucleotídeo que podem resultar numa inserção/exclusão de um exão, alterando o tamanho da proteína/ADN e contribuir para a suscetibilidade para o cancro. Segundo a base pública de polimorfismos de base única (dbSNP), existem cerca de 149.735.377 SNPs no genoma humano (dados até 2015), pelo que, estima-se que ocorra um SNP a cada 1000 pares de bases.¹²⁶

1.3.1 Gene da β -sintetase da cistationina (C β S)

A β -sintetase da cistationina encontra-se no braço longo do cromossoma 21, posição 22.3 (21q223), como presente na Figura 1.11¹²⁷. Este gene encontra-se envolvido na via de transsulfuração do ciclo da HCys (Figura 1.8) e pensa-se que possua cerca de 160 mutações, principalmente nos indivíduos que sofrem de homocistinúria.^{128–130} Algumas das mutações mais importantes, ocorrem na inserção de 68pb na região codificada pelo exão 8 (c.844_845ins68) do gene da C β S, descoberto em 1995, dado que ocorre uma duplicação da fronteira intrão/exão no terminal 5' – splicing 3' do intrão 7 e 5' no fim do exão 8.^{130–133} Essas mutações são por exemplo as I278T, G307S e T833C que se encontram presentes nos alelos aquando da mutação 844ins68.^{130,132} A mutação 844ins68 é vista como um fator de risco independente para doenças como a aterosclerose, principalmente quando se encontra em homozigotia e heterozigotia.¹³²

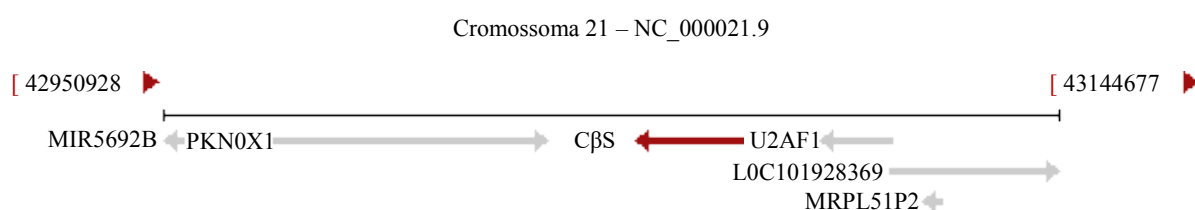


Figura 1.11 – Localização Genética do C β S¹²⁷

Como é visível na Figura 1.12¹³⁴, a inserção no exão 8 deriva de duas repetições de 68pb idênticas de ADN, que origina um produto de transcrição normal. Assim, apesar de existirem dois locais de splicing (3'proximal 3' distal) no intrão 7, vê-se que o local 3'distal é exclusivamente selecionado, levando a que a inserção de 68pb seja eliminada e não apareça no RNAm maduro.^{129,135,136}

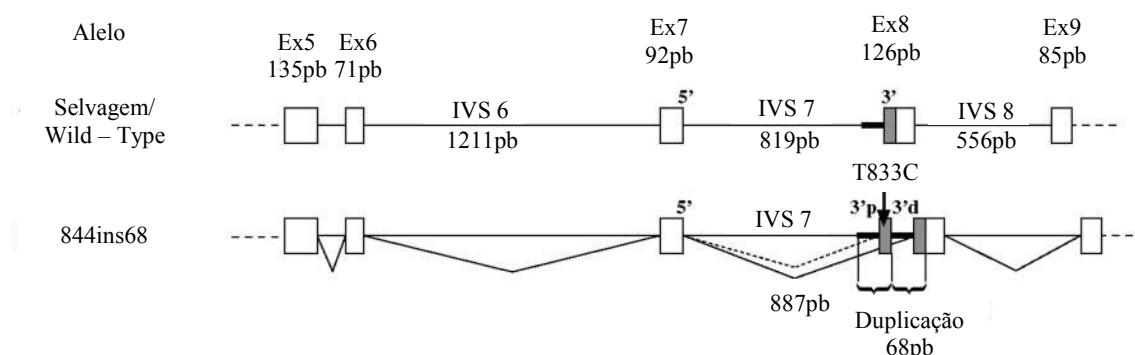


Figura 1.12 – Diagrama do gene C β S normal e mutado.

Ex – exão; IVS – linhas de intrões; A linha grossa e a caixa cinzenta representam o fragmento genómico de 68pb duplicado; Seta – mostra a posição da mutação T833C; Sítios de splicing 5'e 3' de IVS7 apresentam-se no tipo selvagem; Sítios de splicing proximal (3'p) e distal (3'd) apresentam-se no tipo 844ins68; Linhas sólidas representam os padrões de junção constitutivos; Linhas tracejadas representam os padrões alternativos.¹³⁴

Este gene possui uma estrutura e mecanismo de regulação complexo e contém três domínios funcionais:¹³⁷⁻¹³⁹

- Domínio catalítico – é o que se localiza no centro da enzima e que é responsável pela catálise de reação com a vitamina B6;¹³⁷⁻¹³⁹
- Domínio C-Terminal – é o que inclui uma zona de regulação de inibição da enzima pela S-adenosilhomocisteína (SAH) e liga-se à SAM;¹³⁷⁻¹³⁹
- Domínio N-terminal – é o que inclui um dos locais para as ligações do grupo heme e regula a enzima em resposta a condições redox.¹³⁷⁻¹³⁹

Sabe-se que, este gene utiliza a homocisteína como precursora da síntese de glutatono (GSH) após transsulfuração com formação de cisteína (aminoácido constituinte do GSH) e que tem uma variação genética do tipo Ins/Del, sendo a forma de inserção a que possui maior atividade. Isto acontece porque, quando existe deficiência de vitamina B12, a via de remetilação da HCys fica comprometida, levando a que a via de transsulfuração represente a opção metabólica para a metabolização, principalmente, em situações em que a concentração de Me se encontra elevada. Assim, na via da transsulfuração, a HCys condensa-se com a serina para formar a cistationina, levando a que a reação seja catalisada pelo CβS e pela vitamina B6.^{77,79,140,141}

Por sua vez, a expressão do gene da CβS é estimulada por glucocorticóides e inibida pela Insulina¹⁵. Este processo ocorre a nível da transcrição do RNAm, chegando-se à conclusão que a Insulina desempenha um papel importante na regulação do metabolismo da HCys ao interferir na via de transsulfuração hepática.^{77,132,142} Assim, a variante 844ins68 encontra-se associada ao aumento da transcrição genética e ao aumento da atividade da enzima, pelo que a presença do alelo Ins está ligado à remoção da HCys pela via de transsulfuração. Este fator é considerado como sendo protetor contra certas doenças – como as cardiovasculares.^{79,129,135,141,143}

Note-se que, quando se vai efetuar uma comparação entre os diversos dados recolhidos, é importante ter em conta, as diversidades genéticas presentes nas populações e a quantidade de vitamina B12 que os indivíduos apresentam. Devido a estes e outros fatores, é raro existirem indivíduos homozigóticos para a inserção de 68pb, sendo que um estudo realizado por Kumar et al. demonstrou que não se obteve qualquer resultado homozigótico para esta inserção na população estudada.^{82,141,144}

Relativamente á frequência do polimorfismo 844ins68 na população, pode-se dizer que esta é variável. Quando se encontra em heterozigotia (estado mais comum), existe em cerca de 12% a 14% na população caucasiana da América do Norte, em 8% na população Europeia e em 38% na população negra em África. Já a homozigotia para a mutação encontra-se em cerca de 5% a 10% em toda a população.^{132,133,142} É necessário notar-se que na literatura existem dados que mostram que a regulação é dependente da testosterona e do género, sendo mais frequente no género masculino.^{137,145}

O gene da CβS relaciona-se com a Osteoporose essencialmente devido à deficiência da atividade desta enzima, o que leva a níveis elevados de HCys e de Me plasmáticos e, consequentemente, a níveis reduzidos de cistationina e cisteína na urina, pelo que a Osteoporose é um dos seus sintomas *major*.^{85,132,138}

Uma doença que é bastante conhecida é a homocistinúria, que se manifesta em humanos por causa de mutações nesta enzima, constituindo uma patologia autossómica recessiva caracterizada por defeitos em diversos sistemas e órgãos.^{95,136,137} No caso desta doença, foi descoberta em 1995 uma inserção de 68 pb¹⁶ (c.844_845ins68 encontra-se no exão 8 e possui um efeito específico dependente do género) no gene da CβS em doentes que manifestavam esta patologia, devido a uma deficiência da enzima.^{95,129,136}

¹⁵ Pode regular a atividade da CβS.

¹⁶ Esta inserção está associada a um aumento da atividade enzimática e a uma diminuição dos níveis de HCys, pelo que existem estudos que sugerem que teria um efeito protetor contra eventos patogénicos vasculares.

1.3.2 Gene da redutase do Dihidrofolato (DHFR)

Começando por falar do ácido fólico, é possível verificar-se que este é uma vitamina hidrossolúvel e pouco armazenada no organismo, pelo que tem de ser ingerida através da dieta e/ou suplementação de vitaminas. Esta vitamina é primária para que ocorram reações metabólicas específicas no meio celular e para o funcionamento/crescimento correto do organismo, tornando o folato um cofator fundamental para as reações do metabolismo intermédio – como o caso da síntese de nucleóticos e da transformação de aminoácidos (HCys→Me). É importante ter em conta que, dependendo da idade/sexo/estado fisiológico (gravidez e lactação) do indivíduo, as necessidades de folato vão ser diferentes, pelo que, o grupo de risco para a deficiência desta vitamina são essencialmente os idosos e as gestantes/lactentes.^{146,147}

Para que o ácido fólico seja metabolicamente ativo, é necessário que seja reduzido a dihidrofolato (DHF) e seguidamente a tetrahidrofolato (THF)¹⁷ – formas que participam no metabolismo folato/HCys. Para que isto seja possível é fundamental que haja a redutase do dihidrofolato (DHFR) para catalisar estas reações, através da utilização do NADPH como cofator. Assim, pode-se dizer que o DHFR é uma enzima chave no metabolismo do folato/HCys.^{148,149}

Abordando a DHFR, pode dizer-se esta é uma enzima do metabolismo da homocisteína responsável pela formação do tetrahidrofolato (THF – precursor do dador do grupo metilo 5-CH₃THF) usado na remetilização da homocisteína a metionina e para a síntese de novas purinas, ácido timidílico, alguns aminoácidos, síntese de ADN, crescimento/proliferação celular. Esta enzima é imprescindível no metabolismo do folato/HCys, já que as alterações na sua expressão génica, podem afetar a suscetibilidade para múltiplas doenças que são dependentes do estado de folato, principalmente quando o folato se encontra em concentrações baixas no sangue em conjunto com concentrações elevadas de HCys.^{146,148,149}

Esta enzima está distribuída por todos os organismos, pelo que é importante na regulação da concentração de THF celular. No entanto, uma redução da atividade enzimática de DHFR, provoca uma diminuição do *pool* de THF no interior das células e afeta o nível de coenzimas de folato, o que leva a que os níveis de homocisteína e os processos de metilação também sejam influenciados. Isto acontece porque o metil-THF entra no processo de remetilização da HCys em metionina, fornecendo SAM às reações biológicas de metilação. Estas reações são importantes, por causa da eficácia que os medicamentos utilizados demonstraram ter no tratamento de cancro, uma vez que inibem o DHFR, e consequentemente diminuem a síntese de ADN, a proliferação celular e aumenta as quantidades de HCys.^{62,150}

O gene funcional da DHFR foi mapeado no cromossoma 5 (Figura 1.13¹²⁷) – braço longo na região 14.1 (5q14.1) – e é expresso em três isoformas de RNAm com extremidades 3'UTR de splicing alternativo. Porém existem genes idênticos (pseudogenes) aos do DHFR em cromossomas separados.¹⁵¹ Apesar de o DHFR não apresentar sequências de transição como a TATA box¹⁸ e a CAAT box¹⁹, possui uma região densa em guaninas e citocinas /GC) na região 5'. Até ao momento encontram-se estudados quatro polimorfismos da DHFR, em que o mais estudado é o da deleção de 19-bp no intrão 1, já que este parece ser funcional e porque afeta os níveis de RNAm. É ainda de salientar que a expressão de DHFR é regulada por diversos mecanismos, como é o caso da amplificação génica e a repressão pós-transcricional mediada pelo microRNA.^{146–149}

¹⁷ O tetrahidrofolato e compostos derivados do folato são essenciais para a síntese das purinas, pelo que são elementos fundamentais para a síntese do ADN celular, e para a remetilização da homocisteína.

¹⁸ Também chamado de baixa de Goldberg-Hogness, que possui uma sequência de ADN encontrada na região promotora do núcleo de genes e eucariotas.

¹⁹ Possui um padrão distinto de nucleótidos com a sequência GGCCAATCT que se encontram entre os 60 e 100 pb para o local da transcrição inicial.

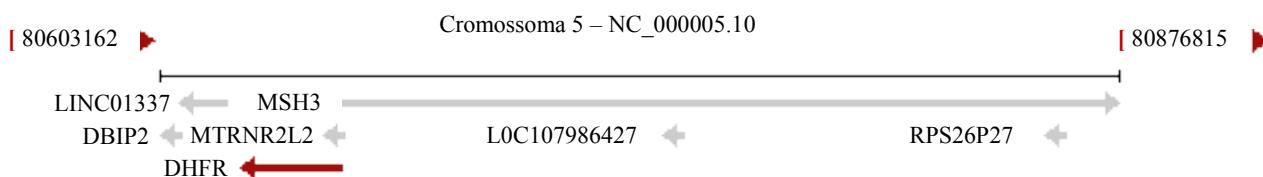


Figura 1.13 – Localização Genética do DHFR¹²⁷

O polimorfismo de deleção de 19-bp no intrão 1 (aumenta a fronteira intrão/exão no intrão 1) do DHFR foi descrito em 2004, tendo-se verificado recentemente que o genótipo Del/Del 19-bp encontrava-se associado a uma concentração mais baixa de homocisteína no plasma.^{67,149} Isto levou a que, alguns autores, se tenham focado no polimorfismo DHFR deleção 19-bp como um indicativo de fator de risco para espinha bífida e partos prematuros.¹⁴⁹ No entanto, a variante Del do polimorfismo Ins/Del do DHFR tem sido associada a um aumento da atividade da redutase do dihidrofolato articulada a diminuídos níveis de homocisteína. Sabe-se ainda que, doenças como a anemia megaloblástica está associada à deficiência de DHFR.⁶⁷ Já o genótipo Del/Del parece afetar a expressão genética e alterar o fenótipo folato/HCys, sendo que se encontra associado a um aumento da expressão de DHFR e dos folatos nos eritrócitos. Um estudo elaborado por Gellekink *et al.*, demonstrou a existência de uma relação entre o genótipo Del/Del do DHFR e os níveis baixos de HCys, enquanto outro estudo não mostrou qualquer tipo de associação, pelo que é importante ter em conta fatores como a idade, a dimensão das amostras, o género, entre outros, aquando da realização de um estudo. Assim, pensa-se que os indivíduos homozigóticos apresentam concentrações de HCys mais baixas em comparação com os heterozigóticos.^{67,141,148}

Quando se usa a DHFR como meio de tratamento/medicação²⁰ anti-folato em doenças como o cancro, é importante ter em conta que, a expressão e atividade desta enzima pode sofrer mudanças que podem afetar a maneira de como o indivíduo vai reagir ao tratamento (eficácia e efeitos colaterais).¹⁴⁹ Note-se ainda que as variações do gene DHFR possuem um papel duplo, isto é, tanto podem proteger como aumentar o risco para o cancro. Isto acontece porque, quando a expressão de DHFR é mais elevada, os níveis de 5,10-metileno-THF também são mais altos e por isso possuem um papel protetor. Por outro lado, quando existe uma alteração no armazenamento/disponibilidade de 5,10-metileno-THF, as reações de metilação podem ser afetadas, aumentando assim o risco para o cancro.^{146,147,149,151}

1.3.3 Gene da metilenotetrahidrofolato (MTHFR)

O gene da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima regulatória do metabolismo da HCys, ou seja, é uma flavoproteína homodimérica que garante a síntese de 5-MTHF (dador de metilo na remetilação de homocisteína a metionina).¹⁵² Esta enzima tem a capacidade de reduzir os níveis de HCys no sangue, é uma das mais importantes no metabolismo do folato (Figura 1.8) e é primária para que ocorra a síntese de ADN. O substrato da MTHFR é o 5,10-metileno-tetra-hidrofolato (THF), doador do grupo metil para a transformação do desoxiuridilato (dUMP) em desoxitimidilato (dTMP), importante para que ocorra a síntese de ADN.^{153–155}

Este gene encontra-se no cromossoma 1 e no braço pequeno da posição 36.3 (1p36.3), como se pode ver na Figura 1.14¹²⁷. Estima-se que existam cerca de 60 polimorfismos neste gene.¹⁵⁶ Existem ainda cinco mutações que resultam da mudança na sequência deste gene, sendo que uma das mais importantes é a que provoca a substituição C→T no MTHFR C677T. Esta mutação encontra-se associada a uma

²⁰ Um possível tratamento é o que tem por base o Metotrexato (antimetabólico), dado que se trata de uma droga anti-folato usada no tratamento de cancros e doenças auto-imunes, que tem a função de inibir o metabolismo do ácido fólico.

baixa atividade enzimática (cerca de 50%) e a um aumento dos níveis de HCys sérica.¹⁵⁷ Isto acontece porque a baixa atividade enzimática proporciona uma interrupção da síntese de metionina no ciclo da HCys, reduzindo consequentemente a produção de SAM.¹⁵⁸ Já as quantidades elevadas de HCys e baixas de folato inferem uma condição inflamatória, dado que o stress oxidativo inibe a MTHFR através do consumo de FAD.^{78,158} Os indivíduos que possuem o genótipo TT para esta mutação e possuem baixas concentrações de folato, apresentam uma maior probabilidade de adquirirem hiperhomocistêmia e doenças cardiovasculares.^{67,158-160} Assim, estudos demonstram que o aumento de HCys encontra-se associado à transição de uma citosina por uma timina (C→T) no nucleotídeo 677 da região codificadora do gene MTHFR, sendo que esta substituição leva à permutação de uma alanina por uma valina na proteína originária.¹⁵⁹⁻¹⁶¹

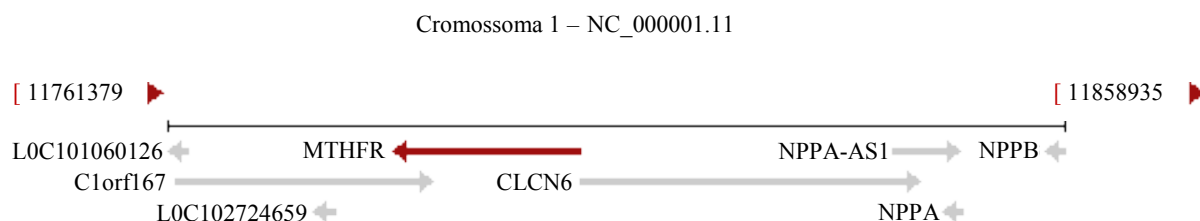


Figura 1.14 – Localização Genética da MTHFR¹²⁷

A MTHFR possui dois domínios:^{97,158,161}

- Domínio catalítico ou N-terminal – que se liga ao dinucleótido de flavina e adenina (FAD), ao dinucleótido nicotinamida adenina fosfato (NADPH) e ao 5, 10 – metileno-THF; é neste domínio que se encontra a mutação C677T do MTHFR, sendo este o domínio que se encontra mais suscetível à mutação; o stress oxidativo inibe o domínio catalítico;^{97,158,161}
- Domínio regulatório ou C-terminal.^{97,158,161}

Sabe-se que a prevalência da mutação MTHFR 677 C>T depende da localização geográfica e da etnia da população analisada, sendo que cerca de 40% da população geral é heterozigota e 8-10% é homozigótica para esta mutação.^{97,162} Estudos demonstram que o genótipo mais frequente nas populações é o heterozigótico polimórfico (CT) com cerca de 60% de atividade, seguida pelo homozigótico sem mutação (CC) e por fim o homozigótico mutado (TT) com cerca de 30% da atividade enzimática.^{93,162} Este polimorfismo encontra-se associado ao aumento do risco para doenças, como é o caso da nefropatia diabética em indivíduos caucasianos que já possuem Diabetes *Mellitus* e nas populações chinesas.^{64,97}

Assim, os indivíduos heterozigóticos que possuem esta mutação apresentam um ligeiro aumento da HCys, enquanto os indivíduos portadores do alelo T, apresentam uma menor concentração de folato no plasma e maior de HCys.^{64,93,163} Isto acontece porque o alelo T condiciona uma enzima mais instável e menos ativa, já que, acumula mais HCys e inibe a ligação do FAD à molécula.^{64,163}

O gene da MTHFR é um bom candidato para a Osteoporose, dado que estudos demonstram que este gene está associado à DMO.^{164,165} Outro motivo pela qual esta relação existe, é porque os indivíduos diabéticos tipo II possuem mais frequentemente o genótipo TT e apresentam concentrações de HCys mais baixas quando comparados com indivíduos saudáveis TT.⁹⁷ Isto acontece porque a Diabetes protege contra a Osteoporose, dado que, na diabetes não existe perda de massa óssea, mas sim um aumento de massa óssea. Assim, como existe uma associação entre a Osteoporose e a prevalência de diabetes, o gene da MTHFR é um bom indicador para a Osteoporose.^{64,97,163}

1.3.4 Gene da S-Transferase do Glutathione (GST) e isoformas (GSTT1, GSTM1, GSTP1)

Abordando a S-transferase do Glutathione (GST), pode-se dizer que esta é uma enzima que regula a conversão de compostos tóxicos em metabólitos hidrofílicos e que é responsável pela metabolização de xenobióticos e oxidantes reativos, por conjugação com o glutathione reduzido (GSH).⁹⁰⁻⁹² O GST pode ser encontrado em múltiplos organismos, acabando por formar uma superfamília multigénica de enzimas metabólicas de desintoxicação de fase II encontradas principalmente no citosol, pelo que existem cerca de nove classes de GSTs codificadas em:¹⁶⁴⁻¹⁶⁷

- Citosólicas – maior família de transferases, porque possuem oito classes de GSTs e são as que apresentam atividades próprias deste grupo de enzimas; as oito classes partilham cerca de 30% da mesma sequência, denominam-se por α (alpha), ζ (zeta), κ (kappa), θ (theta), μ (miu), π (pi), σ (sigma) e Ω (omega) e correspondem às letras do alfabeto em A, Z, K, T, M, P, S e O, respetivamente;¹⁶⁴⁻¹⁶⁷
- Microssómicas – proteínas da membrana que se encontram relacionadas com o metabolismo da GSH, encontrando-se nas membranas plasmática e externa mitocondrial e no retículo endoplasmático. Possui apenas uma classe de GSTs associado à produção de Leucotrienos (formados a partir do ácido araquidónico).¹⁶⁴⁻¹⁶⁷

Esta divisão foi realizada de acordo com os critérios de sequenciação de nucleotídeos de aminoácidos e de acordo com as propriedades estruturais quarternárias/terciárias imunológicas que possuíam.¹⁶⁵ A maior parte destas classes diferem no tamanho e estrutura do intrão/exão. Note-se que cada subfamília pode conter no máximo cinco polipeptídeos separados e podem compartilhar cerca de 90% da sua identidade, apesar de essas classes poderem ser encontradas em cromossomas diferentes.^{91,165,168}

Sabe-se que as enzimas GST têm como principais funções: a) o transporte intracelular; b) a catálise da conjugação de electrófilos com o GSH; c) a catálise da redução de hidroperóxidos de lípidos pelo GSH; d) a destoxificação dos electrófilos (eletrões, quinonas, cetonas) que se ligam ao ADN; e) proteção de tecidos da sobrecarga oxidante e combate aos radicais livres; f) metabolização e peroxidação de estrogénios e lípidos; g) recuperação das proteínas com grupos SH envolvidos na transdução da mensagem.^{90,165,169} No entanto, com o avançar do conhecimento sobre esta enzima, percebeu-se que este também se encontra relacionado com a biossíntese e metabolismo de esteroides, prostaglandinas e na resistência de agentes quimioterapêuticos. Assim, pode-se dizer que o GST possui mecanismos para proteger as células contra os efeitos carcinogénicos dos compostos endógenos/exógenos e de produtos que apresentem um efeito de “stress” oxidativo, podendo ser usados como novas medidas de tratamento.^{166,167,170}

A GST pode ser encontrado com elevada expressão no fígado (até 4% da proteína total e cerca de 10% no fígado de rato) e em menor expressão nos pulmões, cérebro e coração. O facto de o GST poder induzir a ação de antioxidantes leva a que os animais possuam mais tolerância a carcinogénicos e à sobrecarga oxidante.^{91,164,170} É necessário ter em conta que, a expressão das diferentes classes de GSTs são diferentes entre os diversos tecidos e na fase do desenvolvimento do indivíduo, pelo que nem todas as isoformas são expressas em todos os tecidos e da mesma maneira.^{91,171}

Entre as enzimas polimórficas na população humana de GSTs, as que são mais estudadas são formas GSTT1, GSTM1 e as GSTP1, sendo que também são estas que vão ser analisadas neste trabalho.

1.3.4.1 Isoforma GSTT1

Relativamente à isoforma GSTT1 do gene da GST, pode-se dizer que esta pertence à classe θ e que se localiza no cromossoma 22 da região q11.2, como é possível verificar-se na Figura 1.15¹²⁷. Dentro da classe θ existe ainda outro gene, o GSTT2, sendo que este e o GSTT1 encontram-se separados por 50pb. Tanto o GSTT1 como o T2 são constituídos por cinco exões e apresentam uma estrutura idêntica. Esta isoforma é polimórfica nos humanos e é constituída por duas formas alélicas, que são a funcional/positiva/selvagem, denominada de GSTT1*1, e a negativa/nula, denominada de GSTT1*0. É na forma nula que se encontra uma deficiência da atividade enzimática para o qual o gene codifica, dado que este é originado através de uma recombinação homóloga.¹⁷²⁻¹⁷⁴

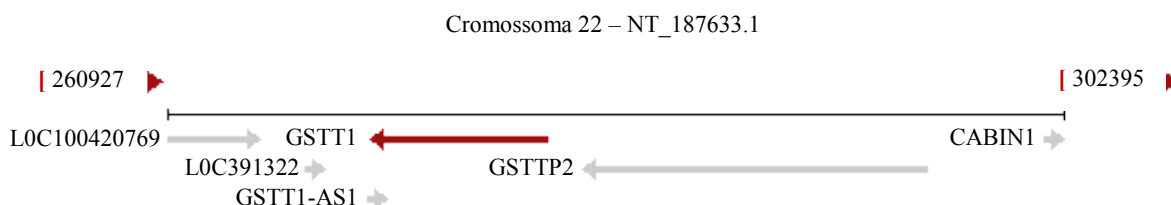


Figura 1.15 –Localização Genética do GSTT1¹²⁷

No que diz respeito aos polimorfismos que levam à deleção do gene GSTT1, sabe-se que esta é comum na população humana, apesar de as diferenças étnicas/geográficas puderem alterar esses valores. Assim, na população europeia, o genótipo nulo tem uma frequência de 15 a 40%, enquanto nas populações africanas/asiáticas essa frequência é de 60 a 65%.¹⁷²⁻¹⁷⁴

Por fim, quando ocorre uma deleção do gene GSTT1 (e do GSTM1), existe também uma redução da atividade enzimática das GSTs totais, levando a que haja uma diminuição da capacidade de os tecidos desintoxicarem os compostos reativos a que estão expostos. Quando isto acontece, existe um acumular de compostos reativos (habitualmente cetonas e aldeídos) e um aumento da suscetibilidade para o desenvolvimento de certas patologias, pelo que existem estudos que demonstram que a deleção do gene GSTT1 (e GSTM1) encontra-se relacionada com o desenvolvimento do cancro do pulmão. Isto acontece, porque o GSTT1 tem especificidade para carcinogénicos presentes no tabaco, pelo que quando está ausente, aumenta o risco para se desenvolver cancro.¹⁷²⁻¹⁷⁵

1.3.4.2 Isoforma GSTM1

Abordando a isoforma GSTM1, pode-se dizer que esta pertence à classe μ e que se encontra no cromossoma 1 da região p13.3 (Figura 1.16¹²⁷). Esta classe encontra-se codificada em cinco genes: 5'GSTM4→GSTM2→GSTM1→GSTM5→GSTM3 3', como podemos ver na Figura 1.16. Este gene encontra-se associado à destoxificação de hidrocarbonetos aromáticos e mutagénicos e não é expresso em 20%-50% dos indivíduos. Isto leva a que, as alterações genéticas nesta isoforma, proporcionem um aumento dos níveis de estrogénios e consequentemente de doenças relacionadas com os estrogénios (E1 ou estrona, E2 ou estradiol e E3 ou estriol).^{90,172-174}

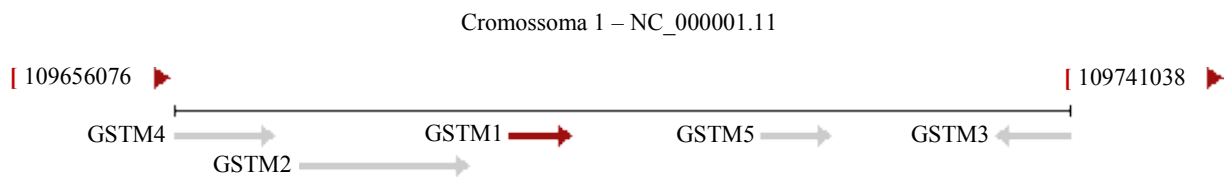


Figura 1.16 –Localização Genética do GSTM1¹²⁷

A GSTM1 é polimórfica, constituído por sete exões, encontra-se no tecido pulmonar e possui dois alelos ativos, o GSTM1*1 (forma positiva) e o GSTM1*0 (forma negativa). Neste caso, é a forma nula que resulta da deleção total/parcial do gene, ou seja, é o que se relaciona com a ausência da atividade enzimática da enzima para o qual o gene codifica.^{166,172,174}

Como acontece com a GSTT1, os polimorfismos associados à deleção da GSTM1 são idênticos na população, sendo que, também neste caso, diferem entre as étnias e as regiões geográficas. Na população europeia o genótipo nulo desta isoforma encontra-se com uma frequência de 40%-50%, enquanto nas populações africanas/asiáticas correspondem a cerca de 24-38%.^{173,174}

1.3.4.3 Isoforma GSTP1

A gene GSTP1 pertence à classe π e encontra-se no cromossoma 11 da região q13, como podemos ver na Figura 1.17¹²⁷. Esta isoforma é a que mais prevalece nos tecidos não hepáticos e encontra-se relacionada com a desintoxicação de vários carcinogénicos, produzidos pelo metabolismo de hidrocarbonetos e de compostos eletrofílicos através da conjugação do glutationo.^{91,164,168}

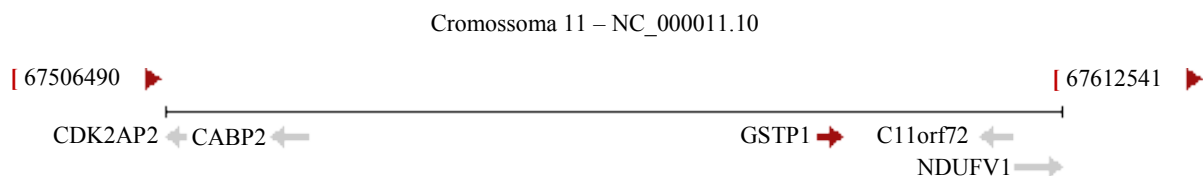


Figura 1.17–Localização Genética do GSTP1¹²⁷

Nesta isoforma existem três alelos de GSTP1: o GSTP1*A (alelo selvagem); o GSTP1*B – possui a transição A→G no nucleótido +313 do exão 5 levando a uma mudança no codão 105 de ATC (Ile) para GTC (Val); o GSTP1*C – realiza a mesma transição de o GSTP1*B e a transição C→T no nucleótido +341 do exão 6, levando à mudança de GCG (ala) para GTG (Val) no codão 114.^{91,169} As variações alélicas no codão 105 encontram-se associadas a uma redução da atividade de GSTP1 nos diversos tecidos e a uma aptidão para inativar os compostos mutagénicos.^{168,175,176}

Note-se ainda que o alelo GSTP1*B encontra-se associado ao aumento de ocorrências de cancro, essencialmente por causa da atividade enzimática reduzida da variante deste alelo. Isto acontece porque, este alelo apresenta uma menor capacidade de desintoxicação dos metabolitos ativos.^{91,168,175}

A isoforma GSTP1 encontra-se relacionada com a Osteoporose, dado que segundo o estudo realizado por Ragab, existe uma associação entre a redução de DMO e a elevação dos níveis de osteocalcina. Isto acontece porque a desintoxicação ineficaz de EROs encontra-se associada ao risco para a diminuição dos valores de DMO.¹⁶⁸

Assim, de uma forma geral, as isoformas GSTT1 e GSTM1 provocam a supressão total do gene e estão associados a uma ausência total da capacidade antioxidante. Já a isoforma da GSTP1, possui o gene que codifica esta isoenzima, apresentando um polimorfismo funcional que conduz a uma substituição do aminoácido isoleucina por valina no codão 105, resultando numa diminuição da capacidade de GSTP1 para a conjugação de certas toxinas com o GSH.

1.3.5 Resumo dos Polimorfismos estudados e a direção teoricamente esperada

De forma a se entender melhor os polimorfismos genéticos analisados no nosso trabalho e a direção teoricamente esperada do efeito no risco da presença da variante alélica, elaborou-se um pequeno quadro que resume as características mais importantes de cada polimorfismo estudado. Esse quadro encontra-se representado na Tabela 1.3.

Tabela 1.3 – Quadro resumo dos Polimorfismos Genéticos da C β S, DHFR, MTHFR e GST (T1, M1 e P1) analisados, respectivas direções teóricas esperadas, efeitos no risco da presença da variante para um maior grau de Osteoporose

Gene	Via Primária	Alelo	Alteração Nucleotídica ou Proteica	Possível efeito da variação alélica	Direção esperada do efeito no risco (maior grau de Osteoporose)
CβS 844ins68 pb	Via da Transsulfuração	Inserção	Deleção : Inserção – mutação na inserção 68pb na região codificada pelo exão 8 do cromossoma 21q22.3	Indivíduos com a mutação apresentam uma atividade mais elevada	Diminui
DHFR del19 pb	Via da Remetilação	Deleção	Inserção : Deleção – mutação na deleção 19pb no intrão 1 do cromossoma 5q14.1	Indivíduos com a mutação apresentam uma atividade mais elevada	Diminui
MTHFR C677T (rs1801133)	Via da Remetilação	T	C:T – Substituição de uma citosina (C) por uma timina (T) no nucleotídeo 677 do cromossoma 1 posição 36.3	Indivíduos com a mutação apresentam uma menor atividade	Aumenta? (existem resultados contraditórios)
GSTT1	Via da Destoxificação de fase II	“Nulo”	Não Nulo : Nulo – Deleção do gene no cromossoma 22q11.2	Sem atividade	Aumenta
GSTM1	Via da Destoxificação de fase II	“Nulo”	Não Nulo : Nulo – Deleção do gene no cromossoma 1p13.3	Sem atividade	Aumenta
GSTP1 Ile105Val (rs 1695)	Via da Destoxificação de fase II	G	A : G – Substituição de uma adenina (A) por uma guanina (G) no codão 105 do cromossoma 11q13.2	Indivíduos com a mutação apresentam uma menor atividade	Aumenta

C β S – cistationina β -sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutationo s-transferase T1; GSTM1 – glutationo s-transferase M1; GSTP1 – glutationo s-transferase P

2 Objetivos do estudo e a sua finalidade

2.1 Objetivos/Finalidade

Como foi mencionado anteriormente, a Osteoporose é uma doença multifatorial, em que existe uma diminuição da massa óssea e uma deterioração crónica da microarquitECTURA do tecido ósseo, levando a um aumento da fragilidade óssea e do risco de fraturas. Através dos múltiplos estudos efetuados sobre a Osteoporose, sabe-se que os indivíduos com esta patologia têm tendência para terem um alto risco de fraturas e sérios problemas de mobilidade/mortalidade, pelo que é necessário o estudo desta patologia evolui, se há ou não uma suscetibilidade genética para esta doença e quais são os seus riscos a curto/médio/longo prazo.

Para que tal seja possível, propôs-se como objetivos principais deste estudo:

- a) Relacionar/determinar os polimorfismos genéticos que codificam proteínas envolvidas no estado de oxidação-redução celular em indivíduos pertencentes aos três grupos em análise (controles, Osteopenia, Osteoporose). Esses polimorfismos foram a) β -sintetase da cistationina (C β S), b) redutase do dihidrofolato (DHFR), c) metilenotetrahidrofolato (MTHFR), d) s-transferase do glutatono (GST) e suas isoformas;
- b) Determinar a suscetibilidade genética para a Osteoporose e a relação genótipo-fenótipo intermédios para o desenvolvimento desta patologia.

Para além dos objetivos principais, foram propostos objetivos secundários, nomeadamente:

- a) Estudar a relação de parâmetros antropométricos, sociodemográficos, metabólicos e de remodelação óssea com o desenvolvimento de Osteoporose;
- b) Relacionar esses parâmetros com os polimorfismos genéticos estudados;

Com estes objetivos pretende-se contribuir para o aumento do conhecimento da fisiopatologia da Osteoporose, para que assim seja possível determinar a sua suscetibilidade, identificar novas terapêuticas e melhorar as condições de vida dos doentes.

3 Materiais e Métodos

3.1 Descrição da Amostra Populacional

3.1.1 *Caracterização da Amostra Populacional*

O presente estudo de associação teve por base uma amostra de 503 indivíduos seguidos na consulta de endocrinologia da Clínica de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo de Lisboa Lda. pelo Prof. Doutor Mário Rui Mascarenhas. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação da DMO em diferentes partes do esqueleto por DXA (*Dual-energy X-ray absorptiometry*) e posteriormente, divididos em três grupos: a) Densidade Mineral Óssea Normal (N=185-36,8%); b) Osteopenia (N=160-31,8%); c) Osteoporose (N=158-31,4%). A idade média da população analisada é de $55,41 \pm 14,05$ anos.

O primeiro grupo, denominado por “Densidade Mineral Óssea Normal”, corresponde ao grupo controlo da população analisada e foi composto por 146 mulheres e por 39 homens, com média de idade de $49,08 \pm 13,07$ anos. O segundo grupo, denominado por “Osteopenia”, foi composto por 111 mulheres e por 49 homens, com média de idade de $53,86 \pm 13,27$ anos. Por fim, o terceiro grupo, denominado por “Osteoporose”, correspondente ao grupo “caso”/“doente”, foi composto por 122 mulheres e por 36 homens, com média de idade de $64,40 \pm 11,05$ anos.

Note-se que todos os dados recolhidos dos participantes foram obtidos mediante o seu consentimento informado por escrito.

3.1.1.1 Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão foram pertencer a um dos três grupos em análise (DMO normal, Osteopenia e Osteoporose), ser homem/mulher, existir amostra de ADN para a realização da análise genética, terem autorizado a análise do ADN, existirem dados clínicos e sobre a idade, o IMC, o estado de menopausa e dos parâmetros metabólicos necessários para se realizar este estudo.

Todos os indivíduos que respeitaram os critérios de inclusão, foram identificados através de um código/número alfanumérico e posteriormente foram registados numa base de dados confidencial, juntamente com toda a sua informação.

3.1.1.2 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão foram excluir os indivíduos para os quais não existiam dados sobre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos necessários para este estudo.

É necessário notar que existiram variâncias no que diz respeito à amostra usada para cada polimorfismo analisado no Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina de Lisboa. Isto aconteceu devido a diversos fatores que levaram a que algumas amostras fossem excluídas da análise efetuada e a que não fossem usadas no estudo dos polimorfismos seguintes, como são o caso de: a) a amostra ter esgotado; b) ter baixa concentração de ADN; c) não apresentar resultados num dos polimorfismos estudados.

Na Tabela 3.1 encontra-se o número total de amostras analisadas para cada um dos polimorfismos genéticos estudados.

Tabela 3.1 – Número total de amostras analisadas para cada polimorfismo

		Total
		Nº
CβS ins68 pb exão 8	Del/Del	415 (80,1%)
	Ins/Del	97 (18,7%)
	Ins/Ins	6 (1,16%)
	Total	518 (100%)
DHFR del19 pb intrão 1	Ins/Ins	160 (30,8%)
	Ins/Del	265 (51,1%)
	Del/Del	94 (18,1%)
	Total	519 (100%)
MTHFR C677T	CC	280 (46,8%)
	CT	239 (40,0%)
	TT	79 (13,2%)
	Total	598 (100%)
GSTT1	0	130 (25,1%)
	1	388 (74,9%)
	Total	518 (100%)
GSTM1	0	245 (47,3%)
	1	273 (52,7%)
	Total	518 (100%)
GSTP1 Ile105Val	AA	198 (38,8%)
	AG	256 (50,2%)
	GG	56 (11,0%)
	Total	510 (100%)

Nº - número de indivíduos em análise; % - percentagem de indivíduos em cada genótipo; CβS – cistationina β-sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutationo s-transferase T1; GSTM1 – glutationo s-transferase M1; GSTP1 – glutationo s-transferase P

3.2 Parâmetros avaliados

3.2.1 Parâmetros Antropométricos e Sociodemográficos

Durante a avaliação clínica foram recolhidos os parâmetros antropométricos e realizou-se o cálculo do índice de massa corporal (IMC) pela fórmula $[\text{peso (Kg)}/\text{altura}^2(\text{m}^2)]$. Recolheram-se também os parâmetros sociodemográficos, sexo e idade.

3.2.2 Parâmetros Metabólicos

Durante o processo de avaliação clínica, foram colhidas amostras de sangue para posteriores avaliações bioquímicas e genéticas.

Os parâmetros bioquímicos foram analisados através dos métodos padrões de análise do laboratório de Análises Clínicas Dr. David Santos Pinto. Estes métodos incluíram a glicemia e insulinémia para o cálculo do HOMA_{IR} (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*), colesterol_{total}, HDL, LDL, Triglicéridos, Calcemia, Fosfatemia, Hormona da Paratiroideia (PTH), Osteocalcina, Fosfatase alcalina e fracção Óssea da Fosfatase alcalina (FA_{óssea}).

3.2.3 Parâmetros Genéticos

3.2.3.1 Extração de ADN genómico de sangue total

O ADN genómico foi extraído de sangue total colhido em EDTA, utilizando um método de extração não enzimático de salting-out, previamente otimizado no Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina de Lisboa e adaptado do método descrito por Lahiri D.K. e Nurnberger Jr J.I¹⁷⁷. Os protocolos de extração e dos equipamentos utilizados encontram-se no Anexo 8.1 e 8.2.

3.2.3.2 Avaliação da concentração e do grau de pureza do ADN extraído

A avaliação da concentração (ng/μL) do ADN extraído, bem como do seu grau de pureza (razão entre as absorvências a 260 e 280nm), foram determinadas através da leitura de absorvências num espectrofotómetro de espectro completo (*NanoDrop® ND-1000, Thermo Scientific*).

3.2.3.3 Variantes Genéticas Analisadas

A localização cromossómica dos genes estudados e os alelos obtidos para os polimorfismos genéticos seleccionados encontram-se descritos na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Polimorfismos genéticos analisados, localização no cromossoma e respetivas alterações

Polimorfismo	Cromossoma	Alelos
CβS 844ins68 pb	21q22.3	Deleção : Inserção
DHFR del19 pb	5q14.1	Inserção : Deleção
MTHFR C677T (rs1801133)	1p36.3	C:T
GSTT1	22q11.2	Não nulo :Nulo
GSTM1	1p13.3	Não nulo :Nulo
GSTP1 Ile105Val (rs 1695)	11q13.2	A : G

SNP, single nucleotide polymorphism; posição da alteração; Alelos, ancestral: mutante; %; CβS – cistationina β-sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutationo s-transferase T1; GSTM1 – glutationo s-transferase M1; GSTP1 – glutationo s-transferase P.

3.2.3.4 Genotipagem dos Polimorfismos Genéticos

3.2.3.4.1 Determinação Genética

Os polimorfismos genéticos ins68pb do gene da β-sintetase da cistationina (CβS), del19pb do gene da redutase do dihidrofolato (DHFR), C677T do gene da metilenotetrahidrofolato (MTHFR) e os polimorfismos dos genes da S-transferase do glutationo T1, M1 e P1 (GSTT1, GSTM1, GSTP1) foram determinados através da técnica de PCR ou PCR-RFLP, seguindo as condições presentes na Tabela 3.3.

Esta técnica permite que uma zona específica do genoma seja multiplicada em variadíssimas (milhões) cópias *in vitro*, pelo que é necessário ter o conhecimento das regiões da sequência que se pretende amplificar. Para que esta reação ocorra é necessário repeti-la ciclicamente (entre 30 e 40 ciclos) num termociclador (2720 Thermal Cycler da Applied Biosystems). É no termociclador que se sucede uma série de alterações de temperatura (Tabela 6), para que assim seja possível a produção de bastantes cópias da região de interesse. Assim, a realização desta reação, fundamenta-se na repetição de três passos que possuem tempos e temperaturas exatas para cada um e para a sequência dos *primers* utilizados:

a) Desnaturação: a temperatura elevada (geralmente a 94°C) separa a cadeia dupla de ADN em duas cadeias simples que vão servir de molde;

b) Emparelhamento: local onde existe uma replicação da sequência de interesse (tamanhos entre os 100pb e os 600pb); a sua temperatura situa-se entre os 40°C e os 65°C consoante o comprimento dos *primers* e da sua sequência;

c) Extensão: depois da ligação dos *primers* às sequências complementares de ADN, eleva-se a temperatura até aproximadamente aos 72°C e a enzima *Taq polimerase* vai replicar a cadeia de ADN. A extensão começa na extremidade 3' do *primer*, criando uma cadeia dupla a partir de cada uma das cadeias simples, já o *Taq polimerase* sintetiza exclusivamente na direção 5' para 3'.

Numa reação de PCR, têm de existir no mínimo dois *primers*, sendo cada um para uma cadeia simples de ADN que foi produzida durante a desnaturação, ou seja, os *primers* ligam-se à sequência complementar. Neste procedimento, é de elevada importância ter um critério rigoroso de temperatura, dado que é esta que permite que os *primers* se liguem à sequência alvo com alta especificidade.

Relativamente à preparação das misturas reacionais, estas foram executadas numa bancada previamente limpa, assim como os materiais que iriam ser usados com o intuito de prevenir contaminações, pelo que, assume-se que estes se encontravam livres de ácidos nucleicos. Durante todo o processo, usaram-se luvas e gelo, para que não houvessem contaminações nem degradação do material genético que se estava a usar. Posteriormente, as sequências que se pretendiam amplificar foram amplificadas de acordo com as condições descritas na Tabela 3.4, sendo que todas as amostras foram submetidas a uma desnaturação inicial (Hotstart – 2 minutos a 94°C) antes de se iniciar a reação de PCR.

No que diz respeito à análise dos polimorfismos genéticos, os polimorfismos da CβS e do DHFR, foram realizados através de PCR. Já para os polimorfismos GSTT1 e GSTM1, a análise foi feita em simultâneo através do PCR-Multiplex, onde se usaram cinco *primers* específicos para as sequências de interesse, sendo que, um conjunto de par de *primers* serviu para identificar o gene da enzima GSTM4 (controlo positivo), uma vez que este não apresenta polimorfismos.

Como os polimorfismos da MTHFR e do GSTP1 são polimorfismos pontuais (SNP), a análise destes foi realizada através de PCR, e posteriormente, o produto de PCR (fragmentos amplificados) foi submetido a uma digestão por uma enzima de restrição específica (*Hinf I* para a MTHFR e *Alw 26I* para o GSTP1). Esta digestão podia ser realizada de duas maneiras: através do PCR-RFLP ou através de uma estufa (opção escolhida). Ambas as formas permitem uma restrição enzimática, possibilitando uma distinção dos alelos através da visualização dos fragmentos pela eletroforese em gel de agarose (Fermentas).

Tabela 3.3 – Polimorfismo, Sequência dos *primers*, condições de amplificação e restrição

Polimorfismos	Sequência dos <i>Primers</i>		Reagentes (Volume final)	Condições de PCR
CβS ins68 pb exão 8	Forward: 5'- GCAGTTGTTAACGGCGGTATTG - 3' Reverse: 5'-GCCGGGCTCTGGACTCGACCTA - 3'		Hotstart (2 min a 94°) – 200 ng ADN <i>Primer</i> Foward (1:10) – 10pmol <i>Primer</i> Reverse (1:10) – 10pmol Green Taq Polymerase PCR Master Mix (Fermentas)-12,5 μ l Água desionizada – 0,5 μ l	40 ciclos Desnaturação: 30 seg a 94° Emparelhamento: 30 seg a 62° Extensão: 40 seg a 72° Extensão final: 10 min a 72°
DHFR del19 pb intrão 1	Foward: 5'- TCAGGTATCTGCCGGGCC – 3' Reverse: 5'- AAAAGGGGAATCCAGTCGG – 3'		Hotstart (2 min a 94°) – 200 ng ADN <i>Primer</i> Foward (1:10) – 10pmol <i>Primer</i> Reverse (1:10) – 10pmol Green Taq Polymerase PCR Master Mix (Fermentas) – 25 μ l Água desionizada – 13 μ l	35 ciclos Desnaturação: 30 seg a 94° Emparelhamento: 30 seg a 60° Extensão: 45 seg a 72° Extensão final: 7 min a 72°
MTHFR C677T	<u>Amplificação</u>	Foward: 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' Reverse: 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'	Hotstart (2 min a 94°) – 200 ng ADN <i>Primer</i> Foward (1:10) – 10pmol <i>Primer</i> Reverse (1:10) – 10pmol Green Taq Polymerase PCR Master Mix (Fermentas) – 25 μ l Água desionizada – 13 μ l	35 ciclos Desnaturação: 30 seg a 94° Emparelhamento: 30 seg a 61° Extensão: 45 seg a 72° Extensão final: 7 min a 72°
	<u>Digestão</u>	HinfI (10U/ μ l)	Produto de amplificação – 10 μ l H ₂ O ADNse e RNase free – 18 μ l HinfI – 10U Tampão R ⁺ (10x) – 2 μ l	16 horas a 37°
GSTM1 e GSTT1		<i>Primer 1:</i> 5'-GCCATCTTGTGCTACATTGCCCCG-3' <i>Primer 2:</i> 5'-ATCTTCTCCTCTTCTGTCTCCCC-3' <i>Primer 3:</i> 5'-TTCTGGATTGTAGCAGATCATGCCC-3' <i>Primers 4:</i> 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' <i>Primer 5:</i> 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'	Hotstart (2 min a 94°) – 200 ng ADN <i>Primer</i> Foward (1:10) – 10pmol <i>Primer</i> Reverse (1:10) – 10pmol Green Taq Polymerase PCR Master Mix (Fermentas) – 25 μ l Água desionizada – 13 μ l	40 ciclos Desnaturação: 45 seg a 94° Emparelhamento: 45 seg a 64° Extensão: 45 seg a 72° Extensão final: 5 min a 72°
GSTP1 Ile105Val	<u>Amplificação</u>	Forward: 5'- ACCCCAGGGCTCTATGGGAA -3' Reverse: 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCT-3'	Hotstart (2 min a 94°) – 200 ng ADN <i>Primer</i> Foward (1:10) – 10pmol <i>Primer</i> Reverse (1:10) – 10pmol Green Taq Polymerase PCR Master Mix (Fermentas) – 25 μ l Água desionizada – 10 μ l	35 ciclos Desnaturação: 30 seg a 94° Emparelhamento: 30 seg a 59° Extensão: 45 seg a 72° Extensão final: 5 min a 72°
	<u>Digestão</u>	Alw 26 I (10U/ μ l)	Produto de amplificação – 10 μ l H ₂ O ADNse e RNase free – 18 μ l 10X Buffer Tango (10x) – 2 μ l Alw 26I - 10U	16 horas a 37°

3.2.3.4.2 Eletroforese em Gel de Agarose

Os produtos de amplificação foram aplicados em gel de agarose com brometo de etídeo (substância mutagênica, que teve de ser manuseada com medidas rigorosas), de forma a visualizar as bandas de amplificação/produtos de restrição e estabelecer os genótipos para cada indivíduo. As condições finais de eletroforese e as bandas correspondentes a cada genótipo estão referidas na Tabela 3.4.

Para que fosse possível obter-se uma banda de amplificação, os produtos de amplificação tiveram de ser separados por eletroforese em gel de agarose (tina de eletroforese sub-are GT bio-rad, gel de agarose da Lonza, fonte Biorad PowerPac 300) com tampão TAE 1x (20 Mm Tris-Acetato, 1mM EDTA, pH 8,0). Dependendo das quantidades de amostras e da concentração do gel, este foi corado entre os 6 e os 8 µL de brometo de etídeo num volume de 100 mL de TAE 1x. Note-se que, a observação/análise dos resultados foi efetuada através da utilização de um marcador molecular de 50 pb (Invitrogen) e um controlo negativo que possuía 10µL de água desionizada (sem adição de ADN), para que assim se pudesse determinar se tinha ou não havido contaminação durante o processo de PCR. Por fim, as visualizações das bandas dos produtos de amplificação/restricção foram realizadas num transiluminador de ultravioleta (GenoSmart VWR®).

Para os polimorfismos da CβS, DHFR e GSTM1 e GSTT1 foi feito apenas um gel como as características presentes na tabela 3.4, para que fosse possível analisar-se os resultados obtidos, sendo que apenas o de DHFR foi feito a 4% e os restantes a 3%. No caso da MTHFR e do GSTP1, foi necessário realizar-se um gel de agarose (2%, 130v, 30 min) para que se pudesse verificar se tinha ocorrido amplificação do PCR (MTHFR-198bp, GSTP1-157bp). Após a visualização dessas bandas, no caso da MTHFR, os produtos de amplificação foram digeridos numa reação que incluía 10µL de ADN amplificado, 18 µl de H₂O ADNse e RNase free, 1.0µL de enzima de restrição (*Hinf*I – 10U/µL) e 2.0µL de tampão R⁺ (10x) (Thermo Scientific) durante 16h a 37°C. Neste caso, a enzima *Hinf* I (Thermo Scientific) reconhece a sequência 5' G I ANTC 3' e caso aconteça substituição de C por T, o fragmento é cortado, e são visualizados fragmentos/bandas de 175 e 23 pb. No caso do GSTP1, os produtos de amplificação foram digeridos numa reação que continha 10µL de ADN amplificado, 18 µl de H₂O ADNse e RNase free, 1.0 µl de Alw 26I e 2.0 µl de 10X Buffer Tango (10x) (Thermo Scientific) durante 16h a 37°C. A enzima Alw 26I (Thermo Scientific) reconhece a sequência 5' GTCTCN₁ 3' e caso aconteça substituição de A por G, o fragmento é cortado, e são visualizados fragmentos/bandas de 93 e 83 pb.

Tabela 3.4 – Características do gel de electroforese para cada polimorfismo e bandas visualizadas

Polimorfismos	Gel da Agarose (%) / Voltagem / Tempo	Bandas/Genótipo (pb)
CβS ins68 pb exão 8	3% / 130 volts / 90 min	Homozigóticos sem inserção – 252 pb (Del/Del)
		Heterozigóticos – 320 pb e 252 pb (Ins/Del)
		Homozigóticos com inserção – 320 pb (Ins/Ins)
DHFR del19 pb intraão 1	4% / 130 volts / 90 min	Homozigóticos sem deleção – 144 pb (Ins)
		Heterozigóticos – 144 pb e 125 pb (Ins/Del)
		Homozigóticos com deleção - 125 pb (Del)
MTHFR C677T	3% / 130 volts / 90 min	Homozigóticos sem mutação – 198 pb (CC)
		Heterozigóticos – 198 pb, 175 pb e 23 pb (CT)
		Homozigóticos com mutação – 175 pb e 23 pb (TT)
GSTM1 e GSTT1	3% / 130 volts / 60 min	GSTM1 – 230 pb
		GSTM4 (banda controlo) – 157 pb
		GSTT1 – 480 pb
GSTP1 Ile105Val	3% / 130 volts / 60 min	Homozigóticos sem mutação – 176 pb (AA)
		Heterozigóticos – 176 pb, 93 pb e 83 pb (AG)
		Homozigóticos com mutação – 93 pb e 83 pb (GG)

pb - pares de bases; %); CβS – cistationina β-sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenoetetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutationo s-transferase T1; GSTM1 – glutationo s-transferase M1; GSTP1 – glutationo s-transferase P

→ Polimorfismo da C β S

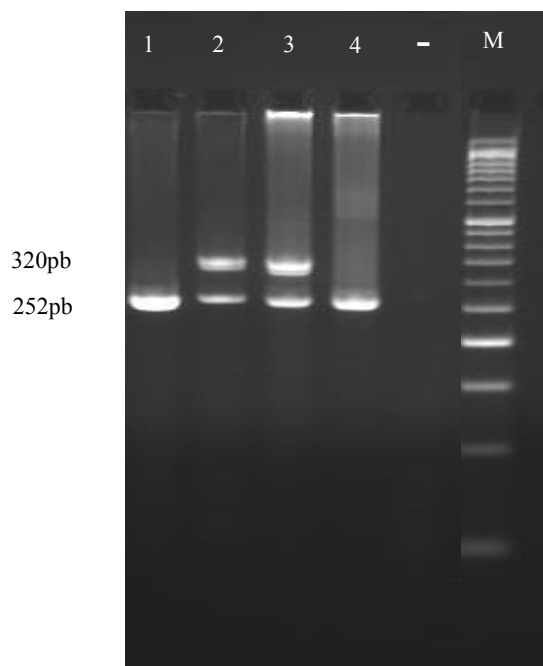


Figura 3.1 – Gel de amplificação do polimorfismo C β S ins68 pb exão 8. O fragmento de 320 pb corresponde ao genótipo de inserção. M, Marcador de peso molecular (Mass Ruler, ADN Ladder Low range, Fermentas); - controle; 1 e 4 – homozigótico para a deleção (Del/Del); 2 e 3 – heterozigótico deleção/inserção (Del/Ins); Não presente na imagem- homozigótico para a inserção.

→ Polimorfismo do DHFR

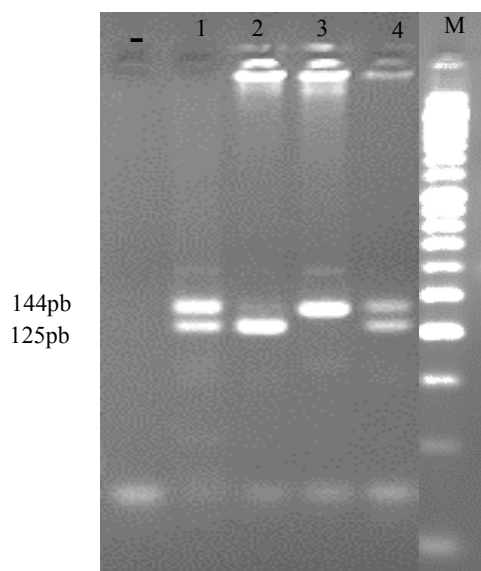


Figura 3.2 – Gel de amplificação do polimorfismo DHFR del19 pb intrão 1. O fragmento de 144 pb corresponde ao genótipo de inserção e o de 125 pb corresponde ao genótipo de deleção. M, Marcador de peso molecular (Mass Ruler, ADN Ladder Low range, Fermentas); - controle; 1 e 4 – heterozigótico inserção/deleção (Ins/Del); 2 – homozigótico para a deleção (Del/Del); 3 – homozigótico para a inserção (Ins/Ins).

→ Polimorfismo da MTHFR

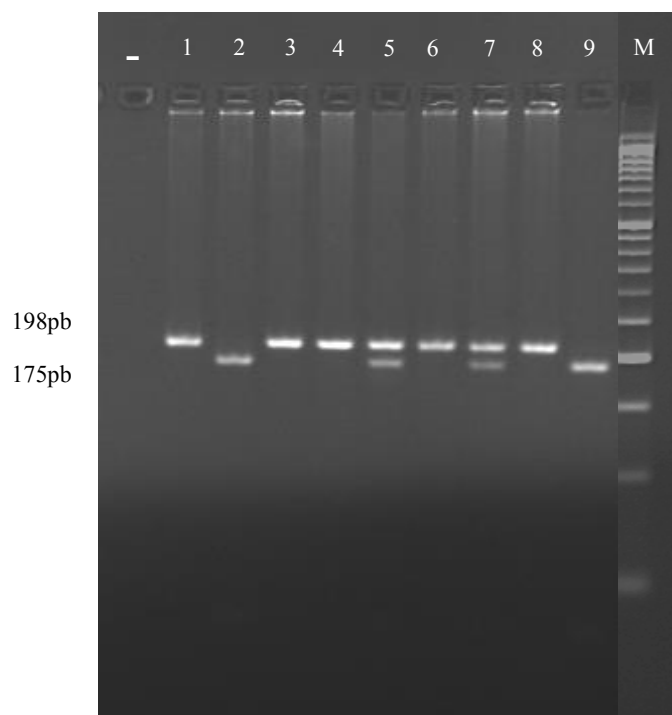


Figura 3.3 – Gel de amplificação do polimorfismo MTHFR C677T. O fragmento de 198 pb revela o produto de PCR não digerido e correspondente ao alelo C. O fragmento de 175 pb revela o produto digerido com HinfI e corresponde ao alelo T. M Marcador de peso molecular (Mass Ruler, ADN Ladder Low range, Fermentas); - controle; 5 e 7 – heterozigótico CT; 1, 3, 4, 6 e 8 homozigótico CC; 2 e 9 – homozigótico TT.

→ Polimorfismo do GSTM1/GSTT1

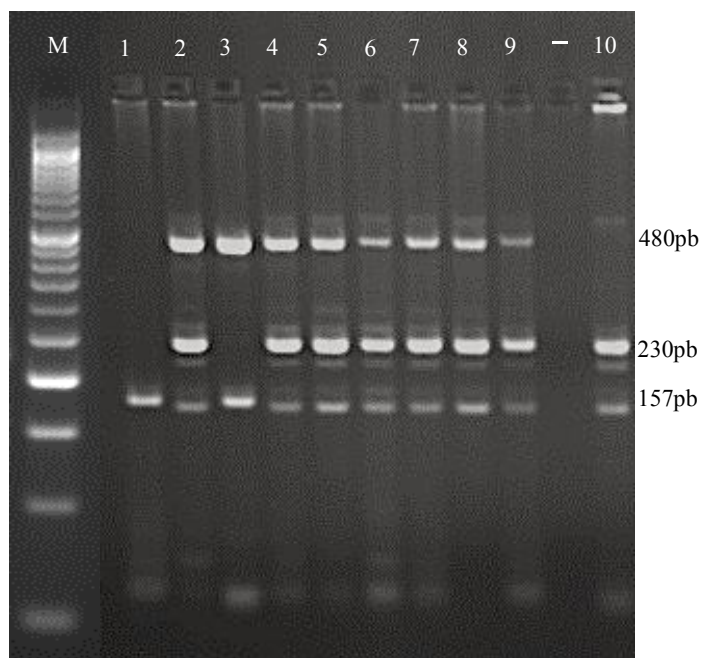


Figura 3.4 – Gel de amplificação dos polimorfismos GSTM1/T1. O fragmento de 157 pb correspondente à GST M4, usado como controle interno de amplificação. A presença de fragmentos de 230 e 480 pb indica GST M1 e GST T1 genótipos não nulos, respectivamente. M, Marcador de peso molecular (Mass Ruler, ADN Ladder Low range, Fermentas); - controle; 1- genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo; 2, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 – genótipo GSTM1 não nulo e GSTT1 não nulo; 3 – genótipo GSTM1 nulo e GSTT1 não nulo; 10 – genótipo GSTM1 não nulo e GSTT1 nulo.

→ Polimorfismo do GSTP1

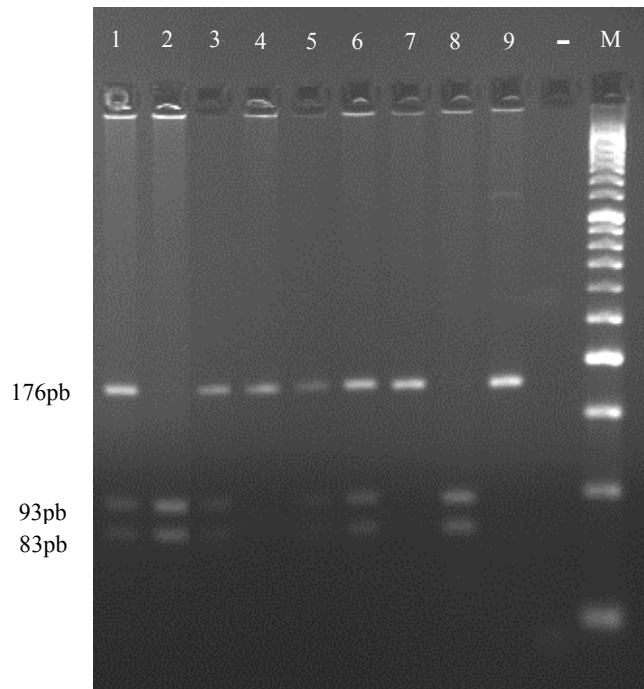


Figura 0.1 – Gel de amplificação dos polimorfismos GSTP1 Ile105Val.

O fragmento de 176 pb revela o produto de PCR não digerido e correspondente ao alelo A. Os fragmentos de 93 pb e 83 pb revelam o produto digerido com Alw 26 I e corresponde ao alelo G. O fragmento de 176 pb é correspondente ao genótipo AA, e o fragmento 93pb e 83pb ao genótipo GG. M, Marcador de peso molecular (Mass Ruler, ADN Ladder Low range, Fermentas); - controlo; 1, 3, 5 e 6 – heterozigótico AG; 2 e 8 – homozigótico GG; 4, 7 e 9 – homozigótico AA

3.2.3.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através de dois programas de *software*: SPSS 25.0 e *Primer of Biostatistics*. Após a realização dos estudos clínicos/genéticos, inseriram-se os resultados obtidos numa base de dados construída no programa SPSS 25.0, onde se protegeu a identidade de todos os doentes e todas as informações recolhidas dos mesmos. Nesta análise estatística, foram considerados resultados estatisticamente significativos quando estes apresentavam um *p-value* <0,05.

Em relação aos polimorfismos genéticos analisados, quando estes geraram três genótipos, foram avaliados estatisticamente como três grupos diferentes, isto é, tendo-se em conta os três genótipos separados. Posteriormente, agrupou-se o genótipo heterozigoto com o genótipo homozigótico selvagem (modelo dominante) ou com o genótipo mutado (modelo recessivo).

Para além da divisão anterior, a análise estatística foi realizada dividindo-se os indivíduos em DMO normal, Osteopenia e Osteoporose, analisando a população total e juntando os indivíduos com Osteopenia com os indivíduos com Osteoporose. Relativamente aos parâmetros metabólicos, estes foram tratados como variáveis contínuas. Estas foram testadas para a sua normalidade através do teste não paramétrico de *Kolmogorov-Smirnov*. As variáveis com distribuição normal foram descritas usando a média e desvio padrão [média \pm d.p] e as não normais usando a mediana [mínimo-máximo].

Relativamente às frequências genotípicas observadas, estas foram testadas para o equilíbrio de *Hardy-Weinberg (HWE)* pelo teste do *Qui-Quadrado de Pearson*. Este teste também foi usado para avaliar o significado estatístico das diferenças entre as frequências dos grupos de estudo com posterior análise do *Odds Ratio (OR)* e intervalos de confiança de 95% (IC 95%) obtidos com base na regressão logística binária.

Na análise descritiva realizada fez-se uma análise uni e bivariada em que na análise bivariada para as variáveis com distribuição normal, as comparações estatísticas foram realizadas através dos testes T de amostras independentes (testes paramétricos *T-Student*), teste *ANOVA* (análise de variância) com comparações múltiplas e correlações de Pearson. No caso das variáveis com distribuição não normal foram usados os testes *Mann-Whitney*, *Kruskal-Wallis* e correlações de Spearman. Para a estatística bivariada das variáveis categóricas, foi usado o teste χ^2 de Pearson ou o teste exato de Fisher e foi calculado o *Odds Ratio* com o respectivo intervalo de confiança.

4 Resultados

4.1 Caraterização da população

4.1.1 Descrição Geral da População

Os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos estudados encontram-se descritos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Descrição da População para os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos

Parâmetros	N	Média	Desvio padrão
Idade (anos)	503	55,41	14,05
IMC(kg/m ²)	503	28,22	5,02
Glicemia (mmol/L)	420	96,2	36,43
Insulina (mcUI/mL)	393	8,6	5,99
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	385	2,1	2,27
Colesterol _{Total} (mg/mL)	411	200,4	39,35
HDL (mg/mL)	404	58,12	14,90
LDL (mg/mL)	387	120,40	34,64
Triglicéridos (mg/ml)	403	112,37	59,30
Calcemia (mg/dL)	172	9,74	4,67
Fosfatemia (mg/dl)	169	3,46	0,55
PTH (pg/mL)	403	49,13	22,95
Fosfatase alcalina (UI)	399	69,73	28,53
Fração óssea (µg/L)	340	11,03	5,89
Osteocalcina (ng/ml)	315	7,33	8,29

IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; N – número de indivíduos analisados. Teste de Kolmogorov-Smirnov de uma amostra

Na Tabela 4.2 encontram-se presentes as amostras utilizadas para a realização do estudo genético e que tiveram resultados de genotipagem para todos os indivíduos (503).

Tabela 4.2 - Descrição da População para os parâmetros genéticos

Polimorfismos Genéticos		N (%)
CβS ins68 pb exão 8	Del/Del	401 (79,7%)
	Ins/Del	97 (19,3%)
	Ins/Ins	5 (1,0%)
DHFR del19 pb intrão 1	Ins/Ins	152 (30,2%)
	Ins/Del	258 (51,3%)
	Del/Del	93 (18,5%)
MTHFR C677T	CC	231 (45,9%)
	CT	206 (41,0%)
	TT	66 (13,1%)
GSTT1	Nulo	125 (24,9%)
	Não nulo	378 (75,1%)
GSTM1	Nulo	235 (46,7%)
	Não nulo	268 (53,3%)
GSTP1 Ile105Val	AA	197 (39,2%)
	AG	250 (49,7%)
	GG	56 (11,2%)

N – número de indivíduos analisados. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); CβS – cistationina β-sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutationo s-transferase T1; GSTM1 – glutationo s-transferase M1; GSTP1 – glutationo s-transferase P; tabelas de frequência

4.1.2 Relação entre a Densidade Mineral Óssea e os Parâmetros Antropométricos, Sociodemográficos e Metabólicos

Como referido anteriormente, o sexo, pode influenciar a suscetibilidade para a Osteoporose. No entanto, para a população em análise, a massa óssea não depende do sexo, como podemos verificar na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Relação entre a classificação de DMO e o sexo

		Mulheres	Homens	Total	P
		Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	
Classificação DMO	Normal	146 (78,9%)	39 (21,1%)	185 (100,0%)	0,098
	Osteopenia	111 (69,4%)	49 (30,6%)	160 (100,0%)	
	Osteoporose	122 (77,2%)	36 (22,8%)	158 (100,0%)	
	Total	379 (75,3%)	124 (24,7%)	503 (100,0%)	

Nº - número de indivíduos em estudo correspondente a cada sexo; % - percentagem de indivíduos de cada sexo presentes na classificação de DMO; DMO – densidade mineral óssea; Valores significativos para $p < 0.05$

Na Tabela 4.4, encontra-se a análise dos parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos segundo a DMO.

Tabela 4.4 – Parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos segundo a DMO.

Parâmetros	DMO Normal Media ± Desvio padrão (N)	Osteopenia Media ± Desvio padrão (N)	Osteoporose Media ± Desvio padrão (N)	p
Idade (anos)	49,08±13,07 (185)	53,86±13,27 (160)	64,40±11,05 (158)	0,000
IMC(kg/m ²)	29,61± 5,14 (185)	27,48± 5,01(160)	27,36± 4,55 (158)	0,000
Glicemia (mg/dl)	95,50±31,82 (159)	97,45±40,25 (124)	95,89±38,02 (137)	0,898
Insulina (mcUI/mL)	9,463±6,32 (146)	8,71±6,78 (118)	7,54±4,56 (129)	0,028
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	2,25±1,85 (145)	2,36± 3,25(116)	1,78±1,43 (124)	0,103
Colesterol _{Total} (mg/mL)	196,5±38,66 (155)	197,51±37,03 (126)	207,70±41,57 (130)	0,035
HDL (mg/mL)	57,60±15,22 (151)	57,85±15,54 (126)	59,02±13,90 (127)	0,707
LDL (mg/mL)	116,12±32,60 (142)	118,22±33,62 (121)	127,42±36,99 (124)	0,020
Triglicéridos (mg/mL)	117,03±67,55 (150)	108,21±56,35 (124)	110,97±51,35 (129)	0,449
Calcemia (mg/dL)	9,46±0,71 (50)	9,25±0,43 (45)	10,21±6,93 (77)	0,042
Fosfatemia (mg/dl)	3,50±0,46 (45)	3,54±0,55 (46)	3,41±0,59 (78)	0,410
PTH (pg/mL)	46,20±19,84 (144)	47,27±25,09 (128)	54,17±23,29 (131)	0,008
Fosfatase alcalina (UI)	66,02±20,87 (139)	69,65±24,93 (130)	73,79±37,32 (130)	0,083
Fração óssea (µg/L)	10,28±3,98 (125)	11,16±5,29 (114)	11,80±8,05 (101)	0,148
Osteocalcina (ng/ml)	5,74±5,60 (96)	6,64±6,57 (105)	9,32±10,87 (114)	0,004

N – Número de indivíduos analisados. Os valores para os genótipos e respetivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para $p < 0.05$.

A partir da análise da Tabela 4.4 podemos verificar diferenças na idade, IMC, insulina, Colesterol_{Total}, LDL, Calcemia, PTH e na Osteocalcina.

Posteriormente procedeu-se à mesma análise estatística, juntando os grupos Osteopenia e Osteoporose e apresentam-se os resultados significativos na tabela 4.5. É ainda necessário evidenciar que a estatística foi ajustada para a idade e para o IMC.

Tabela 4.5 - Parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos segundo a DMO (DMO normal vs Osteopenia ou Osteoporose)

Parâmetros	DMO Normal	Osteopenia ou Osteoporose	p	p*
	Media ± Desvio padrão (N)	Media ± Desvio padrão (N)		
Idade (anos)	49,08±13,07 (185)	59,10±13,29 (318)	0,000	-
IMC(kg/m²)	29,61±5,14 (185)	27,42±4,78 (318)	0,000	-
Insulina (mcUI/mL)	9,46±6,32 (146)	8,10±5,75 (247)	0,029	0,856
Fosfatase alcalina (UI)	66,02±20,87 (139)	71,72±31,74 (260)	0,032	0,043
Fração óssea (µg/L)	10,28±3,98 (125)	11,46±6,72 (215)	0,075	0,031
Osteocalcina (ng/ml)	5,74±5,60 96()	8,04±9,15 (219)	0,007	0,129

p* valor de significância ajustado para a idade e IMC; N – Número de indivíduos analisados. IMC, índice de massa corporal (kg/m²); p – teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Da análise da Tabela 4.5 podemos concluir que todos os parâmetros descritos exceto o da fração óssea, possuem diferenças significativas. Contudo, quando ajustamos a relação anterior para a idade e o IMC, percebemos que apenas a Fosfatase alcalina e a sua fração óssea apresentam resultados significativos (p=0.043 e p=0.031).

4.2 Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros e Metabólicos

Neste tópico encontra-se a correlação entre os parâmetros metabólicos com os parâmetros de remodelação óssea – fosfatase alacalina, fração óssea da fosfatase alcalina, PTH e Osteocalcina – para a população total e para a classificação de DMO. Os resultados significativos encontram-se nas figuras em baixo e as tabelas completas encontram-se nos Anexos 8.3.

4.2.1 População Total

Na População Total encontram-se relações diretas (presentes na Figura 4.1) da fosfatase alcalina com a osteocalcina, glicemia, insulina HOMA_{IR}, LDL e triglicéridos; da fração óssea da fosfatase alcalina com a osteocalcina, glicemia, insulina, HOMA_{IR}, colesterol_{Total}, LDL e triglicéridos; da PTH com o LDL; da osteocalcina com a Fosfatemia. Nesta população encontram-se também relações inversas (Figura 4.2) na relação entre a fosfatase alcalina com o HDL; a PTH com a Fosfatemia; a osteocalcina com a insulina.

Relação Direta

- Fosfatase alcalina (UI):
 - Osteocalcina (ng/ml) (r=0,257; p=0,000; n=296);
 - Glicemia (mmol/L) (r=0,167; p=0,001; n=365);
 - Insulina (mcUI/mL) (r=0,153; p=0,004; n=346);
 - HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol) (r=0,191; p=0,000; n=340);
 - LDL (mg/mL) (r=0,130; p=0,027; n=339);
 - Triglicéridos (mg/ml) (r=0,122; p=0,022; n=355)
- PTH (pg/L):
 - LDL (mg/mL) (r=0,130; p=0,017; n=336);
- Fração óssea (µg/L):
 - Osteocalcina (ng/ml) (r=0,209; p=0,001; n=251);
 - Glicemia (mmol/L) (r=0,187; p=0,001; n=309);
 - Insulina (mcUI/mL) (r=0,132; p=0,023; n=297);
 - HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol) (r=0,173; p=0,003; n=294);
 - Colesterol_{Total} (mg/mL) (r=0,158; p=0,005; n=308);
 - LDL (mg/mL) (r=0,158; p=0,007; n=291);
 - Triglicéridos (mg/ml) (r=0,126; p=0,029; n=303)
- Osteocalcina (ng/ml)
 - Fosfatemia (mg/dl) (r=0,208; p=0,012; n=144)

r= Correlação de Pearson; p = Significância (2 extremidades); n= Número de indivíduos

Figura 4.1 – Correlação direta entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População Total

Relação Inversa

- Fosfatase alcalina (UI):
→ HDL (mg/mL) ($r = -0,133$; $p = 0,013$; $n = 354$)
- PTH (pg/mL):
→ Fosfatemia (mg/dl) ($r = -0,216$; $p = 0,006$; $n = 157$)
- Osteocalcina (ng/ml)
→ Insulina (mcUI/mL) ($r = -0,141$; $p = 0,019$; $n = 277$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.2– Correlação inversa entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População Total

4.2.2 Classificação de DMO

4.2.2.1 População Controle (DMO normal)

Na População Controle (DMO normal) encontram-se relações diretas (Figura 4.3) da fosfatase alcalina com a glicemia, HOMA_{IR}, colesterol_{Total} e LDL; da fração óssea da fosfatase alcalina com a glicemia, colesterol_{Total}, LDL e triglicéridos; da PTH com o LDL. Nesta população encontram-se relações inversas (Figura 4.4) na relação entre a PTH com a Fosfatemia.

Relação Direta

- Fosfatase alcalina (UI):
→ Glicemia (mmol/L) ($r = 0,237$; $p = 0,006$; $n = 132$);
→ HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol) ($r = 0,201$; $p = 0,025$; $n = 124$);
→ Colesterol_{Total} (mg/mL) ($r = 0,237$; $p = 0,006$; $n = 132$);
→ LDL (mg/mL) ($r = 0,188$; $p = 0,039$; $n = 121$)
- Fração óssea (µg/L):
→ Glicemia (mmol/L) ($r = 0,223$; $p = 0,015$; $n = 118$);
→ Colesterol_{Total} (mg/mL) ($r = 0,349$; $p = 0,000$; $n = 118$);
→ LDL (mg/mL) ($r = 0,256$; $p = 0,007$; $n = 108$);
→ Triglicéridos (mg/ml) ($r = 0,223$; $p = 0,017$; $n = 114$)
- PTH (pg/mL):
→ LDL (mg/mL) ($r = 0,211$; $p = 0,019$; $n = 123$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.3– Correlação direta entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com DMO normal

Relação Inversa

- PTH (pg/mL):
→ Fosfatemia (mg/dl) ($r = -0,428$; $p = 0,004$; $n = 43$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.4– Correlação indireta entre os diversos tipos de parâmetros e a classificação de DMO para a População com DMO normal

4.2.2.2 População com Osteopenia

Na População com Osteopenia encontram-se relações diretas (Figura 4.5) da fosfatase alcalina com a glicemia, insulina e HOMA_{IR}; da fração óssea da fosfatase alcalina com a glicemia, insulina e HOMA_{IR}. Existem ainda relações inversas (Figura 4.6) na relação entre a PTH com a Calcemia; a osteocalcina com os triglicéridos.

Relação Direta

- Fosfatase alcalina (UI):
 - Glicemia (mmol/L) ($r=0,252$; $p=0,007$; $n=112$);
 - Insulina (mcUI/mL) ($r=0,336$; $p=0,000$; $n=105$);
 - HOMA_{IR}(mcU/ml.mmol) ($r=0,320$; $p=0,001$; $n=104$)
- Fração óssea (µg/L):
 - Glicemia (mmol/L) ($r=0,304$; $p=0,002$; $n=98$);
 - Insulina (mcUI/mL) ($r=0,336$; $p=0,001$; $n=92$);
 - HOMA_{IR}(mcU/ml.mmol) ($r=0,306$; $p=0,003$; $n=91$)

r = Correlação de Pearson; p = Significância (2 extremidades); n = Número de indivíduos

Figura 4.5– Correlação direta entre os parâmetros de remodelação óssea e os metabólicos, para a População com Osteopenia

Relação Inversa

- PTH (pg/mL):
 - Calcemia (mg/dl) ($r= -0,451$; $p=0,003$; $n=41$)
- Osteocalcina (ng/ml):
 - Triglicéridos (mg/ml) ($r= -0,213$; $p=0,045$; $n=89$)

r = Correlação de Pearson; p = Significância (2 extremidades); n = Número de indivíduos

Figura 4.6– Correlação inversa entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com Osteopenia

4.2.2.3 População com Osteoporose

Na População com Osteoporose (doente) encontram-se relações diretas (Figura 4.7) da fosfatase alcalina com a osteocalcina, LDL e Fosfatémia; da fração óssea da fosfatase alcalina com a osteocalcina, LDL e Fosfatémia; da PTH com o colesterol_{Total}; da osteocalcina com a Fosfatémia. Encontram-se também relações inversas (Figura 4.8) na relação entre a PTH com a Fosfatémia.

Relação Direta

- Fosfatase alcalina (UI):
 - Osteocalcina (ng/ml) ($r=0,395$; $p=0,000$; $n=105$);
 - LDL (mg/mL) ($r=0,203$; $p=0,033$; $n=110$);
 - Fosfatémia (mg/dl) ($r=0,343$; $p=0,004$; $n=68$)
- Fração óssea (µg/L):
 - Osteocalcina (ng/ml) ($r=0,293$; $p=0,008$; $n=81$);
 - LDL (mg/mL) ($r=0,229$; $p=0,031$; $n=88$);
 - Fosfatémia (mg/dl) ($r=0,288$; $p=0,045$; $n=49$)
- PTH (pg/mL):
 - Colesterol_{Total} (mg/mL) ($r=0,193$; $p=0,041$; $n=113$);
- Osteocalcina (ng/ml):
 - Fosfatémia (mg/dl) ($r=0,378$; $p=0,002$; $n=66$)

r = Correlação de Pearson; p = Significância (2 extremidades); n = Número de indivíduos

Figura 4.7 – Correlação direta entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com Osteoporose

Relação Inversa

- PTH (pg/mL):
→ Fosfatemia (mg/dl) ($r = -0,270$; $p = 0,022$; $n = 72$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.8 – Correlação inversa entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com Osteoporose

4.2.2.4 População com Osteopenia ou Osteoporose

Para a População com Osteopenia ou Osteoporose encontram-se relações diretas (Figura 4.9) da fosfatase alcalina com a osteocalcina, glicemia, insulina HOMA_{IR}, e Fosfatemia; da fração óssea da fosfatase alcalina com a osteocalcina, glicemia, insulina e HOMA_{IR}; da osteocalcina com a Fosfatemia. Para esta população, encontram-se ainda relações inversas (Figura 4.10) da fosfatase alcalina com o HDL.

Relação Direta

- Fosfatase alcalina (UI):
→ Osteocalcina (ng/ml) ($r = 0,287$; $p = 0,000$; $n = 204$);
→ Glicemia (mmol/L) ($r = 0,147$; $p = 0,025$; $n = 233$);
→ Insulina (mcUI/mL) ($r = 0,187$; $p = 0,005$; $n = 221$);
→ HOMA_{IR}(mcU/ml.mmol) ($r = 0,191$; $p = 0,005$; $n = 216$);
→ Fosfatemia (mg/dl) ($r = 0,189$; $p = 0,047$; $n = 111$)
- Fração óssea (µg/L):
→ Osteocalcina (ng/ml) ($r = 0,211$; $p = 0,006$; $n = 170$);
→ Glicemia (mmol/L) ($r = 0,178$; $p = 0,014$; $n = 191$);
→ Insulina (mcUI/mL) ($r = 0,175$; $p = 0,017$; $n = 184$);
→ HOMA_{IR}(mcU/ml.mmol) ($r = 0,180$; $p = 0,015$; $n = 182$)
- Osteocalcina (ng/ml):
→ Fosfatemia (mg/dl) ($r = 0,277$; $p = 0,004$; $n = 108$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.9 – Correlação direta entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Relação Inversa

- Fosfatase alcalina (UI):
→ HDL (mg/mL) ($r = -0,143$; $p = 0,032$; $n = 226$)

$r =$ Correlação de Pearson; $p =$ Significância (2 extremidades); $n =$ Número de indivíduos

Figura 4.10 – Correlação inversa entre os parâmetros de remodelação óssea e os parâmetros metabólicos, para a População com Osteopenia ou Osteoporose

4.3 Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea

Neste tópico encontra-se a relação entre os polimorfismos genéticos e a DMO. Os resultados significativos encontram-se nas tabelas em baixo e as tabelas completas encontram-se nos Anexos 8.3.

Tabela 4.6 – Relação entre os polimorfismos genéticos estudados e a DMO

Polimorfismos Genéticos		DMO Normal N (%)	Osteopenia N (%)	Osteoporose N (%)	p
CβS ins68 pb exão 8	Del/Del	141 (76,2%)	129 (80,6%)	131 (82,9%)	0,606
	Ins/Del	42 (22,7%)	29 (18,1%)	26 (16,5%)	
	Ins/Ins	2 (1,1%)	2 (1,3%)	1 (0,6%)	
	Del/Del ou Ins/Del	183 (98,9%)	158 (98,8%)	157 (99,4)	0,848
	Ins/Ins	2 (1,1%)	2 (1,3%)	1 (0,6%)	
	Del/Del	141 (76,2%)	129 (80,6%)	131 (82,9%)	0,289
DHFR del19 pb intrão 1	Ins/Del ou Ins/Ins	44 (23,8%)	31 (19,4%)	27 (17,1%)	
	Ins/Ins	50 (27,0%)	56 (35%)	46 (29,1%)	0,093
	Ins/Del	106 (57,3%)	68 (42,5%)	84 (53,2%)	
	Del/Del	29 (15,7%)	36 (22,5%)	28 (17,7%)	
	Ins/Ins ou Ins/Del	156 (84,3%)	124 (77,4%)	130 (82,3%)	0,254
	Del/Del	29 (15,7%)	36 (22,5%)	28 (17,7%)	
MTHFR C677T	Ins/Ins	50 (27,0%)	56 (35,0%)	46 (29,1%)	0,257
	Ins/Del ou Del/Del	135 (73,0%)	104 (65,0%)	112 (70,9%)	
	CC	79 (42,7%)	79 (49,4%)	73 (46,2%)	0,265
	CT	74 (40,0%)	66 (41,3%)	66 (41,8%)	
	TT	32 (17,3%)	15 (9,4%)	19 (12,0%)	
	CC ou CT	153 (82,7%)	145 (90,6%)	139 (88,0%)	0,083
GSTT1	TT	32 (17,3%)	15 (9,4%)	19 (12,0%)	
	CC	79 (42,7%)	79 (49,4%)	73 (46,2%)	0,462
	CT ou TT	106 (57,3%)	81 (50,6%)	85 (53,8%)	
	Nulo	44 (23,8%)	47 (29,4%)	34 (21,5%)	0,246
	Não nulo	141 (76,2%)	113 (70,6%)	124 (78,5%)	
	Nulo	78 (42,2%)	77 (48,1%)	80 (50,6%)	0,267
GSTM1	Não nulo	107 (57,8%)	83 (51,9%)	78 (49,4%)	
	AA	68 (36,8%)	65 (40,6%)	64 (40,5%)	0,694
	AG	97 (52,4%)	80 (50,0%)	73 (46,2%)	
	GG	20 (10,8%)	15 (9,4%)	21 (13,3%)	
	AA ou AG	165 (89,2%)	145 (90,6%)	137 (88,9%)	0,532
	GG	20 (10,8%)	15 (9,4%)	21 (13,3%)	
GSTP1 Ile105Val	AA	68 (36,8%)	65 (40,6%)	64 (40,5%)	0,700
	AG ou GG	117 (63,2%)	95 (59,4%)	94 (59,5%)	
	CT ou TT	106 (57,3%)	81 (50,6%)	85 (53,8%)	

N – número de indivíduos analisados. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); CβS – cistationina β-sintetase; DHFR – redutase do dihidrofolato; MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; GSTT1 – glutathione s-transferase T1; GSTM1 – glutathione s-transferase M1; GSTP1 – glutathione s-transferase P1; p – Teste χ^2 de Pearson; Valores significativos para $p < 0.05$.

Através da análise da Tabela 4.6 pode concluir-se que a distribuição dos polimorfismos genéticos estudados não varia com a DMO, segundo os vários modelos codominante, recessivo e dominante.

Na Tabela 4.7 realiza-se a mesma análise que na tabela anterior, mas juntando os grupos Osteopenia ou Osteoporose, e apresentam-se os resultados significativos.

Tabela 4.7 – Relação entre os polimorfismos genéticos estudados e a DMO (DMO normal vs Osteopenia ou Osteoporose)

	Polimorfismos Genéticos	DMO Normal N (%)	Osteopenia ou Osteoporose N (%)	p	p*	OR
MTHFR C677T	CC	79 (42,7%)	152 (47,8%)	0,099	0,020	-
	CT	74 (40,0%)	132 (41,5%)			
	TT	32 (17,3%)	34 (10,7%)			
	CC ou CT	153 (82,7%)	284 (89,3%)	0,036	0,008	OR (CC ou CT) = 2,205 IC 95% [1,231-3,948]
	TT	32 (17,3%)	34 (10,7%)			
	CC	79 (42,7%)	152 (47,8%)	0,311	0,073	-
	CT ou TT	106 (57,3%)	166 (52,2%)			

N – número de indivíduos analisados. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase; *p** valor de significância ajustado para a idade e IMC; OR – odds ratio proveniente da regressão logística binária; IC – intervalo de confiança; *p* – Teste χ^2 de Person; Valores significativos para $p < 0.05$.

Através da análise desta tabela podemos verificar que existem resultados significativos para o polimorfismo genético da MTHFR, podendo-se aferir que o alelo C é de risco para DMO reduzida, independentemente de se ajustar (*p**) ou não (*p*) para a idade e para o IMC. Os indivíduos CC ou CT apresentam um risco de 2,205 para DMO reduzida (2,205 IC 95% [1,231-3,948]; *p**=0,008).

4.4 Relação entre os Polimorfismos Genéticos e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos

Neste tópico encontra-se a relação entre os polimorfismos genéticos e os parâmetros antropométricos e metabólicos. Os resultados significativos encontram-se nas tabelas seguintes e as tabelas completas encontram-se nos Anexos 8.3. Para cada polimorfismo foram realizadas as relações presentes na Figura 4.11.

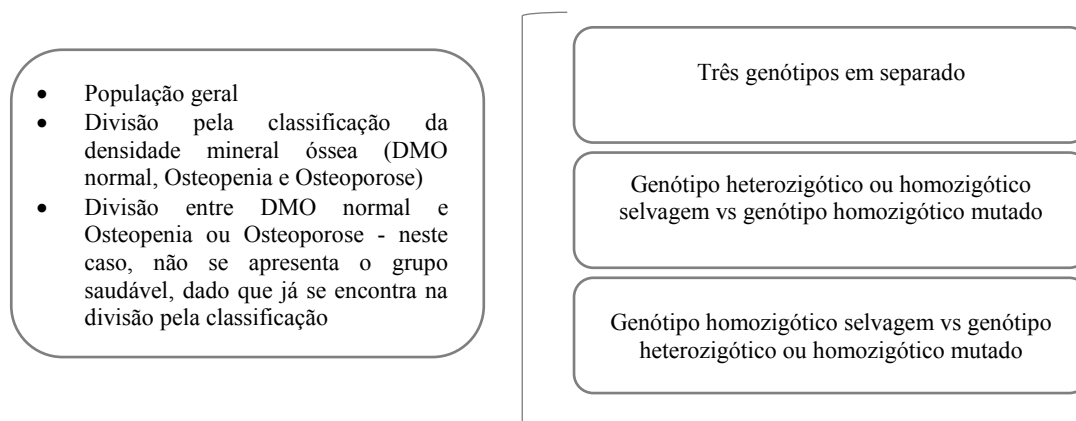


Figura 4.11- Análise realizada para cada polimorfismo em estudo (divisão dos genótipos e divisão da população)

4.4.1 Polimorfismo da C β S

Antes de se abordar os resultados em si, é necessário salientar que, o genótipo Ins/Ins apenas possui 5 indivíduos, levando a que muitas das vezes não exista um desvio padrão e a que o valor do N seja relativamente baixo para a análise estatística.

Tabela 4.8 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população total

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	p
IMC(kg/m ²)	(401)28,15 \pm 5,04	(97)28,57 \pm 5,03	(5)27,53 \pm 3,28	0,728
Glicemia (mmol/L)	(332)96,36 \pm 38,04	(84)95,92 \pm 30,39	(4)88,75 \pm 10,05	0,915
Insulina (mcUI/mL)	(308)8,51 \pm 6,18	(80)8,94 \pm 5,38	(5)8,9 \pm 4,27	0,849
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(304)2,13 \pm 2,44	(77)2,16 \pm 1,52	(4)2,27 \pm 0,81	0,988
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(328)201,27 \pm 40,53	(79)196,29 \pm 34,61	(4)205,25 \pm 28,89	0,583
HDL (mg/mL)	(324)57,48 \pm 14,57	(76)60,75 \pm 16,22	(4)60,25 \pm 12,84	0,218
LDL (mg/mL)	(308)121,47 \pm 34,67	(75)116,21 \pm 34,98	(4)116,5 \pm 25,17	0,489
Triglicéridos (mg/mL)	(320)111,99 \pm 57,89	(79)112,41 \pm 63,14	(4)142,5 \pm 99,81	0,594
Calcemia (mg/dL)	(146)9,79 \pm 5,05	(25)9,49 \pm 0,45	(1)9,3 \pm ---	0,954
Fosfatemia (mg/dl)	(143)3,47 \pm 0,56	(25)3,48 \pm 0,49	(1)2,7 \pm ---	0,378
PTH (pg/mL)	(319)50,02 \pm 23,63	(80)45,14 \pm 20,05	(4)57,63 \pm 14,38	0,178
Fosfatase alcalina (UI)	(317)67,84 \pm 23,79	(77)77,38 \pm 42,28	(5)71,8 \pm 29,93	0,031
Fração óssea (μ g/L)	(269)10,66 \pm 4,81	(67)12,33 \pm 8,87	(4)14 \pm 7,44	0,068
Osteocalcina (ng/ml)	(253)7,43 \pm 8,9	(58)6,96 \pm 5,29	(4)6,85 \pm 2,66	0,922

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Com base na observação da Tabela 4.8, podemos concluir que, para a população geral, obtiveram-se resultados estatisticamente significativos para a Fosfatase alcalina (p=0,031).

Nas Tabelas 4.9, 4.10 e 4.11, demonstra-se a relação entre o polimorfismo genético da C β S com os parâmetros antropométricos e metabólicos (DMO normal, Osteopenia e Osteoporose) separadamente.

Tabela 4.9 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população com DMO normal

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	p
IMC(kg/m ²)	(141)29,66 \pm 5,25	(42)29,54 \pm 4,88	(2)27,61 \pm 3,29	0,852
Glicemia (mmol/L)	(120)94,61 \pm 30,29	(38)98,79 \pm 36,73	(1)76 \pm ---	0,648
Insulina (mcUI/mL)	(109)9,41 \pm 6,64	(35)9,73 \pm 5,36	(2)7,65 \pm 6,43	0,890
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(109)2,23 \pm 1,96	(35)2,32 \pm 1,5	(1)2,29 \pm ---	0,971
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(117)197,8 \pm 41,1	(36)191,42 \pm 29,45	(2)212 \pm 46,67	0,587
HDL (mg/mL)	(115)56,44 \pm 14,24	(34)61 \pm 17,92	(2)66 \pm 18,38	0,228
LDL (mg/mL)	(106)117,14 \pm 32,03	(34)113,09 \pm 35,08	(2)113,5 \pm 33,23	0,816
Triglicéridos (mg/mL)	(112)117,59 \pm 70,39	(36)112,69 \pm 53,35	(2)163,5 \pm 159,1	0,579
Calcemia (mg/dL)	(44)9,45 \pm 0,72	(6)9,55 \pm 0,73	(0) --- 0 \pm ---	0,745
Fosfatemia (mg/dl)	(40)3,48 \pm 0,45	(5)3,58 \pm 0,63	(0) --- \pm ---	0,666
PTH (pg/mL)	(109)46,88 \pm 19,4	(34)43,41 \pm 21,27	(1)66,5 \pm ---	0,400
Fosfatase alcalina (UI)	(107)66,11 \pm 21,05	(30)66 \pm 21,23	(2)61,5 \pm 2,12	0,954
Fração óssea (μ g/L)	(94)10,5 \pm 4,23	(29)9,55 \pm 3,13	(2)10,5 \pm 2,12	0,535
Osteocalcina (ng/ml)	(70)5,93 \pm 6,08	(24)5,21 \pm 4,27	(2)5,25 \pm 2,05	0,858

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Da Tabela 4.9 pode aferir-se que, na população com DMO normal, não existem resultados significativos na relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros descritos.

Tabela 4.10 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população com Osteopenia

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	p
IMC(kg/m ²)	(129)27,47 \pm 5	(29)27,45 \pm 5,2	(2)28,53 \pm 5,06	0,956
Glicemia (mmol/L)	(99)99,33 \pm 43,82	(23)89,78 \pm 20,52	(2)92,5 \pm 9,19	0,586
Insulina (mcUI/mL)	(92)8,66 \pm 6,99	(24)8,72 \pm 6,27	(2)10,6 \pm 4,67	0,924
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(91)2,44 \pm 3,57	(23)2,04 \pm 1,77	(2)2,47 \pm 1,31	0,868
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(102)197,69 \pm 38,3	(23)197,04 \pm 32,48	(1)190 \pm ---	0,977
HDL (mg/mL)	(102)56,57 \pm 15,49	(23)63,52 \pm 15,14	(1)58 \pm ---	0,153
LDL (mg/mL)	(98)119,5 \pm 34,63	(22)113,32 \pm 29,54	(1)100 \pm ---	0,640
Triglicéridos (mg/mL)	(100)107,7 \pm 49,63	(23)108,22 \pm 80,94	(1)159 \pm ---	0,667
Calcemia (mg/dL)	(36)9,22 \pm 0,44	(8)9,4 \pm 0,45	(1)9,3 \pm ---	0,565
Fosfatemia (mg/dl)	(37)3,62 \pm 0,55	(8)3,26 \pm 0,48	(1)2,7 \pm ---	0,080
PTH (pg/mL)	(100)48,24 \pm 26,23	(26)42,44 \pm 20,49	(2)61,85 \pm 14,35	0,412
Fosfatase alcalina (UI)	(102)68,45 \pm 24,99	(26)75,42 \pm 25,03	(2)55,5 \pm 2,12	0,323
Fração óssea (μ g/L)	(90)10,74 \pm 5,07	(23)12,83 \pm 6	(1)10 \pm ---	0,238
Osteocalcina (ng/ml)	(85)6,63 \pm 7,08	(19)6,48 \pm 3,89	(1)10,3 \pm ---	0,854

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Através da análise da Tabela 4.10, podemos dar conta que quando dividimos a população para a Osteopenia, não obtivemos resultados significativos na relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos.

Tabela 4.11 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população com Osteoporose

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	p
IMC(kg/m ²)	(131)27,2 \pm 4,47	(26)28,25 \pm 4,99	(1)25,38 \pm ---	0,514
Glicemia (mmol/L)	(113)95,62 \pm 40,12	(23)97,3 \pm 27,17	(1)94 \pm ---	0,980
Insulina (mcUI/mL)	(107)7,47 \pm 4,66	(21)7,85 \pm 4,24	(1)8 \pm ---	0,937
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(104)1,74 \pm 1,46	(19)2 \pm 1,26	(1)1,85 \pm ---	0,773
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(109)208,35 \pm 41,38	(20)204,2 \pm 44,57	(1)207 \pm ---	0,920
HDL (mg/mL)	(107)59,47 \pm 13,92	(19)56,95 \pm 14,25	(1)51 \pm ---	0,652
LDL (mg/mL)	(104)127,72 \pm 36,67	(19)125,16 \pm 40,52	(1)139 \pm ---	0,917
Triglicéridos (mg/mL)	(108)110,16 \pm 50,21	(20)116,7 \pm 59,13	(1)84 \pm ---	0,762
Calcemia (mg/dL)	(66)10,32 \pm 7,48	(11)9,53 \pm 0,23	(0)0 \pm ---	0,727
Fosfatemia (mg/dl)	(66)3,38 \pm 0,61	(12)3,58 \pm 0,43	(0)0 \pm ---	0,284
PTH (pg/mL)	(110)54,76 \pm 24,41	(20)51,58 \pm 16,54	(1)40,3 \pm ---	0,717
Fosfatase alcalina (UI)	(108)68,98 \pm 25,27	(21)96,05 \pm 69,22	(1)125 \pm ---	0,003
Fração óssea (μ g/L)	(85)10,74 \pm 5,16	(15)16,93 \pm 16	(1)25 \pm ---	0,005
Osteocalcina (ng/ml)	(98)9,19 \pm 11,44	(15)10,37 \pm 6,79	(1)6,6 \pm ---	0,899

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

A Tabela 4.11 mostra resultados significativos para a Fosfatase alcalina (p=0,003) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina (p=0,005). No entanto, como estes resultados significativos foram obtidos por comparação de grupos em que um deles possui apenas 1 indivíduo, não se podem tirar conclusões.

Tabela 4.12 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(260)27,33 \pm 4,73	(55)27,83 \pm 5,07	(3)27,48 \pm 4,01	0,783
Glicemia (mmol/L)	(212)97,35 \pm 41,83	(46)93,54 \pm 24,11	(3)93 \pm 6,56	0,825
Insulina (mcUI/mL)	(199)8,02 \pm 5,87	(45)8,32 \pm 5,37	(3)9,73 \pm 3,63	0,844
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(195)2,07 \pm 2,68	(42)2,02 \pm 1,54	(3)2,27 \pm 0,99	0,983
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(211)203,19 \pm 40,18	(43)200,37 \pm 38,27	(2)198,5 \pm 12,02	0,904
HDL (mg/mL)	(209)58,05 \pm 14,74	(42)60,55 \pm 14,93	(2)54,5 \pm 4,95	0,565
LDL (mg/mL)	(202)123,73 \pm 35,84	(41)118,8 \pm 35,11	(2)119,5 \pm 27,58	0,716
Triglicéridos(mg/mL)	(208)108,98 \pm 49,82	(43)112,16 \pm 70,93	(2)121,5 \pm 53,03	0,895
Calcemia (mg/dL)	(102)9,93 \pm 6,03	(19)9,47 \pm 0,34	(1)9,3 \pm ---	0,942
Fosfatemia (mg/dl)	(103)3,46 \pm 0,6	(20)3,45 \pm 0,46	(1)2,7 \pm ---	0,426
PTH (pg/mL)	(210)51,66 \pm 25,44	(46)46,41 \pm 19,23	(3)54,67 \pm 16,06	0,403
Fosfatase alcalina (UI)	(210)68,72 \pm 25,08	(47)84,64 \pm 50,31	(3)78,67 \pm 40,15	0,007
Fração óssea (μ g/L)	(175)10,74 \pm 5,1	(38)14,45 \pm 11,06	(2)17,5 \pm 10,61	0,004
Osteocalcina (ng/ml)	(183)8 \pm 9,72	(34)8,2 \pm 5,63	(2)8,45 \pm 2,62	0,991

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Analisando-se a Tabela 4.12 verificamos a existência de resultados significativos para a Fosfatase alcalina (p=0,007) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina (p=0,004).

4.4.1.1 Junção entre o genótipo heterozigótico e o homozigótico selvagem vs homozigótico mutado

Quando realizamos a análise do polimorfismo genético da C β S com os diversos parâmetros através da divisão dos genótipos em dois grupos – Del/Del ou Ins/Del e Ins/Ins –, damos conta que não existem resultados significativos para a população total, para as populações com DMO normal, Osteopenia, Osteoporose, e para a junção entre os indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose.

4.4.1.2 Genótipo homozigótico selvagem vs junção entre o heterozigótico e o homozigótico mutado

Seguidamente realizamos a análise do polimorfismo genético da C β S através da divisão dos genótipos em Del/Del e Ins/Del ou Ins/Ins com os parâmetros anteriormente descritos, como podemos visualizar nas Tabelas 4.13, 4.14, 4.15. Neste caso, dá-se conta que não existem resultados significativos para a população com DMO normal e para a população com Osteoporose.

Tabela 4.13 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
Fosfatase alcalina (UI)	(317)67,84 \pm 23,79	(82)77,04 \pm 41,51	0,057

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a junção Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Da análise da Tabela 4.13 podemos observar que os indivíduos portadores dos genótipos Ins/Del ou Ins/Ins têm uma tendência para valores mais elevados de Fosfatase alcalina (p=0,057), mas apesar disso é também importante notar que existe uma tendência para este ser significativo.

Tabela 4.14 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
Fosfatemia (mg/dl)	(37)3,62 \pm 0,55	(9)3,2 \pm 0,49	0,042

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a junção Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Da Tabela 4.14 podemos verificar que existe um resultado significativo para a Fosfatemia (p=0,042), em que são os indivíduos portadores do alelo Del/Del aqueles que apresentam valores mais elevados de Fosfatemia.

Tabela 4.15 – Relação entre o polimorfismo genético da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
Fosfatase alcalina (UI)	(210)68,72 \pm 25,08	(50)84,28 \pm 49,44	0,035
Fração óssea (μg/L)	(175)10,74 \pm 5,1	(40)14,6 \pm 10,93	0,035

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S para a junção Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Analisando a Tabela 4.15, concluímos que existem resultados estatisticamente significativos para a Fosfatase alcalina (p=0,035) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina (p=0,035). Tanto na Fosfatase alcalina como na Fração óssea da fosfatase alcalina, são os indivíduos portadores do genótipo Ins/Del ou Ins/Ins que possuem valores superiores de Fosfatase alcalina e de Fração óssea da fosfatase alcalina.

4.4.2 Polimorfismo do DHFR

Nesta subseção serão analisados/descritos os resultados para o Polimorfismo genético da DHFR, seguindo a ordem da Figura 4.11, ou seja, primeiramente para os três genótipos em separado, seguidamente através do agrupamento do homozigótico selvagem com o heterozigótico e, por fim, com o agrupamento do homozigótico mutado com o heterozigótico.

Tabela 4.16 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del (N) Média \pm desvio padrão	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(152)27,73 \pm 5,29	(258)28,51 \pm 4,82	(93)28,24 \pm 5,09	0,318
Glicemia (mmol/L)	(126)94,48 \pm 32,91	(219)95,18 \pm 33,96	(75)102,08 \pm 47,38	0,301
Insulina (mcUI/mL)	(116)8,35 \pm 6,17	(207)8,36 \pm 5,14	(70)9,75 \pm 7,76	0,212
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(113)1,96 \pm 1,77	(202)2,01 \pm 1,56	(70)2,79 \pm 4,00	0,027
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(124)199,65 \pm 38,72	(215)202,61 \pm 38,62	(72)194,85 \pm 42,45	0,342
HDL (mg/mL)	(123)57,73 \pm 14,18	(212)58,58 \pm 15,37	(69)57,44 \pm 14,84	0,808
LDL (mg/mL)	(119)120,53 \pm 35,61	(203)122,42 \pm 34,05	(65)113,83 \pm 34,36	0,220
Triglicéridos(mg/mL)	(122)110,48 \pm 59,37	(210)114,47 \pm 58,09	(71)109,45 \pm 63,23	0,757
Calcemia (mg/dL)	(56)9,43 \pm 0,68	(82)10,18 \pm 6,71	(34)9,20 \pm 0,42	0,492
Fosfatemia (mg/dl)	(55)3,36 \pm 0,51	(81)3,51 \pm 0,57	(33)3,54 \pm 0,54	0,192
PTH (pg/mL)	(125)51,45 \pm 25,56	(203)47,68 \pm 21,05	(75)49,20 \pm 23,28	0,353
Fosfatase alcalina (UI)	(122)67,40 \pm 23,10	(200)69,71 \pm 25,73	(77)73,48 \pm 40,70	0,343
Fração óssea (μg/L)	(104)10,56 \pm 4,61	(167)11,10 \pm 5,10	(69)11,55 \pm 8,74	0,541
Osteocalcina (ng/ml)	(94)8,37 \pm 11,14	(156)7,14 \pm 7,16	(65)6,31 \pm 5,47	0,282

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Após observação da Tabela 4.16 podemos deduzir que, para a população geral, obtiveram-se resultados estatisticamente significativos para o HOMA_{IR} (p=0,027).

Nas Tabelas 4.17, 4.18, 4.19 e 4.20, mostra-se a relação entre o polimorfismo genético da DHFR com os parâmetros antropométricos e metabólicos através da divisão nos três grupos de classificação de DMO (DMO normal, Osteopenia e Osteoporose) e da junção entre a Osteopenia ou Osteoporose.

Tabela 4.17 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos que apresentam DMO normal

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del (N) Média ± desvio padrão	Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(50) 29,30±5,81	(106) 29,99±4,71	(29) 28,74±5,44	0,449
Glicemia (mmol/L)	(43) 96,39±37,06	(94) 93,31±27,65	(22) 103,04±37,46	0,426
Insulina (mcUI/mL)	(39) 9,73±8,14	(86) 9,39±5,46	(21) 9,28±6,06	0,952
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(38) 2,27±2,13	(86) 2,17±1,50	(21) 2,57±2,54	0,685
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(44) 184,61±33,13	(90) 200,89±39,12	(21) 202,67±43,58	0,053
HDL (mg/mL)	(43) 58,07±15,50	(88) 58,06±14,99	(20) 54,55±16,02	0,633
LDL (mg/mL)	(41) 106,05±30,72	(84) 121,48±33,89	(17) 113,94±25,16	0,043
Triglicéridos (mg/ml)	(42) 105,38±58,03	(87) 120,80±67,55	(21) 124,67±84,06	0,412
Calcemia (mg/dL)	(16) 9,59±1,00	(28) 9,49±0,51	(6) 8,98±0,44	0,199
Fosfatemia (mg/dl)	(14) 3,45±0,38	(26) 3,51±0,51	(5) 3,54±0,51	0,905
PTH (pg/mL)	(40) 49,11±18,66	(83) 46,23±21,71	(21) 40,49±12,31	0,275
Fosfatase alcalina (UI)	(39) 60,31±19,96	(80) 68,16±19,86	(20) 68,60±25,14	0,130
Fração óssea (µg/L)	(34) 9,12±3,95	(73) 10,74±3,70	(18) 10,61±4,84	0,135
Osteocalcina (ng/ml)	(25) 6,69±6,46	(55) 5,48±5,36	(16) 5,13±5,11	0,603

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Tendo por base a Tabela 4.17, podemos observar que para a População com DMO normal existem resultados significativos para o LDL (p=0,043). Pode ainda observar-se que existe uma tendência para que o Colesterol_{Total} varie com os genótipos do polimorfismo genético do DHFR (p=0,053).

Tabela 4.18 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos com Osteopenia

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del (N) Média ± desvio padrão	Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(56) 26,70±4,80	(68) 27,67±4,82	(36) 28,33±5,59	0,288
Glicemia (mmol/L)	(45) 92,64±26,03	(51) 98,20±34,89	(28) 103,82±62,78	0,510
Insulina (mcUI/mL)	(42) 7,72±5,11	(50) 8,63±5,56	(26) 10,45±10,35	0,273
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(41) 1,85±1,76	(49) 2,20±1,76	(26) 3,49±6,00	0,120
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(43) 197,98±32,79	(55) 202,15±33,35	(28) 187,68±48,04	0,243
HDL (mg/mL)	(43) 56,42±13,44	(55) 59,13±17,86	(28) 57,54±13,88	0,691
LDL (mg/mL)	(41) 120,13±31,75	(52) 121,50±30,28	(28) 109,32±41,12	0,276
Triglicéridos (mg/ml)	(43) 110,86±64,31	(53) 109,47±46,91	(28) 101,75±61,11	0,786
Calcemia (mg/dL)	(15) 9,25±0,44	(16) 9,32±0,48	(14) 9,17±0,391	0,636
Fosfatemia (mg/dl)	(15) 3,42±0,58	(16) 3,46±0,59	(15) 3,74±0,47	0,222
PTH (pg/mL)	(46) 51,19±31,54	(53) 44,94±20,16	(29) 45,33±21,49	0,420
Fosfatase alcalina (UI)	(48) 70,23±23,90	(50) 71,08±26,16	(32) 66,53±24,97	0,711
Fração óssea (µg/L)	(41) 11,73±5,46	(41) 11,15±5,69	(32) 10,44±4,55	0,588
Osteocalcina (ng/ml)	(36) 7,48±7,89	(42) 6,73±6,73	(27) 5,39±3,85	0,459

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – ANOVA; Valores significativos para *p*<0.05.

A partir da Tabela 4.18, pode dar-se conta que não existem resultados significativos para a relação entre os parâmetros descritos e o DHFR para os indivíduos com Osteopenia.

Tabela 4.19 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos com Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del (N) Média ± desvio padrão	Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(46) 27,29±4,95	(84) 27,32±4,52	(28) 27,60±4,06	0,955
Glicemia (mmol/L)	(38) 94,47±35,85	(74) 95,47±40,32	(25) 99,28±35,33	0,879
Insulina (mcUI/mL)	(35) 7,58±4,47	(71) 6,92±4,08	(23) 9,39±5,72	0,077
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(34) 1,74±1,27	(67) 1,66±1,44	(23) 2,22±1,56	0,258
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(37) 219,46±43,29	(70) 205,19±42,08	(23) 196,44±33,60	0,085
HDL (mg/mL)	(37) 58,87±13,65	(69) 58,80±13,85	(21) 60,05±15,13	0,935
LDL (mg/mL)	(37) 137,03±38,33	(67) 124,31±37,30	(20) 120,05±31,15	0,153
Triglicéridos (mg/ml)	(37) 115,81±55,93	(70) 110,37±52,83	(22) 104,73±38,25	0,721
Calcemia (mg/dL)	(25) 9,44±0,54	(38) 11,04±9,84	(14) 9,31±0,43	0,586
Fosfatemia (mg/dl)	(26) 3,27±0,52	(39) 3,53±0,62	(13) 3,31±0,57	0,173
PTH (pg/mL)	(39) 54,15±24,15	(67) 51,63±20,64	(25) 60,99±27,86	0,231
Fosfatase alcalina (UI)	(35) 71,43±24,05	(70) 70,50±31,10	(25) 86,28±60,70	0,176
Fração óssea (µg/L)	(29) 10,59±3,56	(53) 11,57±6,22	(19) 14,32±14,82	0,281
Osteocalcina (ng/ml)	(33) 10,61±15,90	(59) 8,97±8,48	(22) 8,32±6,92	0,704

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – ANOVA; Valores significativos para *p*<0.05.

Analisando esta tabela, damos conta que, para a população constituída apenas por doentes, não existem quaisquer resultados significativos. Assim, não existem diferenças significativas quando a população doente se encontra dividida pelos três genótipos possíveis.

Tabela 4.20 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR e os parâmetros antropométricos, e metabólicos para os Indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del (N) Média ± desvio padrão	Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(102) 26,97±4,86	(152) 27,48±4,65	(64) 28,01±4,96	0,383
Glicemia (mmol/L)	(83) 93,48±30,73	(125) 96,58±38,08	(53) 101,68±51,26	0,492
Insulina (mcUI/mL)	(77) 7,66±4,80	(121) 7,63±4,80	(49) 9,95±8,43	0,041
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(75) 1,80±1,55	(116) 1,88±1,60	(49) 2,89±4,50	0,032
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(80) 207,91±39,26	(125) 203,85±38,37	(51) 191,63±41,98	0,065
HDL (mg/mL)	(80) 57,55±13,51	(124) 58,94±15,69	(49) 58,61±14,33	0,802
LDL (mg/mL)	(78) 128,14±35,82	(119) 123,08±34,30	(48) 113,79±37,31	0,089
Triglicéridos (mg/ml)	(80) 113,15±60,25	(123) 109,98±50,17	(50) 103,06±51,84	0,580
Calcemia (mg/dL)	(40) 9,37±0,51	(54) 10,53±8,26	(28) 9,24±0,41	0,483
Fosfatemia (mg/dl)	(41) 3,32±0,54	(55) 3,51±0,61	(28) 3,54±0,55	0,205
PTH (pg/mL)	(85) 52,55±28,27	(120) 48,68±20,61	(54) 52,58±25,64	0,443
Fosfatase alcalina (UI)	(83) 70,74±23,83	(120) 70,74±29,03	(57) 75,19±44,96	0,647
Fração óssea (µg/L)	(70) 11,26±4,77	(94) 11,38±5,97	(51) 11,88±9,77	0,872
Osteocalcina (ng/ml)	(69) 8,98±12,39	(101) 8,04±7,85	(49) 6,70±5,58	0,414

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – ANOVA; Valores significativos para *p*<0.05.

Analisando-se a Tabela 4.20, podemos verificar que existem resultados significativos para a Insulina ($p=0,041$) e para o $HOMA_{IR}$ ($p=0,032$) na população com massa óssea reduzida.

4.4.2.1 Junção entre o genótipo heterozigótico e o homozigótico selvagem vs homozigótico mutado

Após a conclusão da análise estatística anterior, procedeu-se à análise da relação entre o polimorfismo genético da DHFR agrupados em Ins/Ins ou Ins/Del e Del/Del e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população total e para a divisão entre a classificação de DMO. Desta relação podemos concluir que não existem resultados significativos para a população total, para a população com DMO normal, para a população com Osteopenia e para os indivíduos que apresentam Osteoporose.

Tabela 4.21 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR agrupado (Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins ou Ins/del (N) Média \pm desvio padrão	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	P
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(205)205,43 \pm 38,68	(51)191,63 \pm 41,98	0,026
LDL (mg/mL)	(197)125,09 \pm 34,90	(48)113,79 \pm 37,31	0,048

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR agrupado em Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/del. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p<0.05$.

Na Tabela 4.21, verificamos que quando juntamos os indivíduos com Osteopenia e com Osteoporose, existem resultados significativos para o Colesterol_{total} ($p=0,026$) e para o LDL ($p=0,048$). Podemos verificar que os indivíduos portadores do genótipo Ins/Ins ou Ins/Del têm valores de Colesterol_{Total} e de LDL mais elevados, quando comparados com os portadores do genótipo Del/Del.

4.4.2.2 Genótipo homozigótico selvagem e vs junção entre o heterozigótico e o homozigótico mutado

Para terminar a análise deste polimorfismo, procedeu-se à análise da relação entre o polimorfismo genético da DHFR agrupados em Ins/Ins e Ins/Del ou Del/Del e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população total e para a divisão entre as três classificações de DMO. Verificamos que não existem resultados significativos para a população total, para os indivíduos que apresentam Osteopenia e para a junção da população com Osteopenia ou Osteoporose.

Tabela 4.22 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR agrupado (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com DMO normal

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	P
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(44)184,61 \pm 33,13	(111)201,22 \pm 39,80	0,015
LDL (mg/mL)	(41)106,05 \pm 30,72	(101)120,21 \pm 32,60	0,018
Fosfatase alcalina (UI)	(39)60,31 \pm 19,96	(100)68,25 \pm 20,88	0,043
Fração óssea (μg/L)	(34)9,12 \pm 3,95	(91)10,71 \pm 3,92	0,045

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR agrupado em Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/del. LDL – Lipoproteína de baixa densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p<0.05$.

Para a população com DMO normal podemos concluir que se obtiveram resultados significativos para o Colesterol_{Total} ($p=0,015$), LDL ($p=0,018$), Fosfatase alcalina ($p=0,043$) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina ($p=0,045$). Podemos ainda observar que os indivíduos portadores do alelo Del são os que apresentam valores mais elevados para todos os parâmetros significativos descritos anteriormente.

Tabela 4.23 – Relação entre o polimorfismo genético da DHFR agrupado (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del ou Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(37)219,46±43,29	(93)203,02±40,16	0,041
LDL (mg/mL)	(37)137,03±38,33	(87)123,33±35,85	0,059

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR agrupado em Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/del. LDL – Lipoproteína de baixa densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Ao analisarmos a Tabela 4.23, podemos verificar resultados significativos para o $\text{Colesterol}_{\text{Total}}$ ($p=0,041$), tendo os indivíduos portadores do alelo Ins/Ins os valores mais elevados. No entanto, também podemos verificar que o LDL ($p=0.059$) possui uma tendência para ser um resultado significativo e que apresenta uma tendência para valores mais elevados de LDL para os indivíduos Ins/Ins.

4.4.3 Polimorfismo da MTHFR

Na subdivisão seguinte serão analisados/descritos os resultados para o Polimorfismo genético da MTHFR, como se encontra na Figura 4.11.

Tabela 4.24 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População total

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(231)28,21±5,04	(206)28,16±4,89	(66)28,46±5,4	0,914
Glicemia (mmol/L)	(192)99,08±43,56	(168)91,7±24,12	(60)99,58±39,26	0,117
Insulina (mcUI/mL)	(177)8,53±5,6	(159)8,1±4,85	(57)10,24±9,13	0,068
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(174)2,18±2,67	(154)1,93±1,5	(57)2,55±2,64	0,193
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(193)200,45±39,84	(161)198,47±38,66	(57)205,35±39,86	0,526
HDL (mg/mL)	(192)56,79±14,92	(156)58,42±14,39	(56)61,88±15,75	0,076
LDL (mg/mL)	(184)120,75±34,08	(149)118,54±35,44	(54)124,31±34,57	0,567
Triglicéridos (mg/ml)	(188)112,58±55,56	(159)110,74±58,77	(56)116,32±72,54	0,831
Calcemia (mg/dL)	(84)9,29±0,57	(65)10,37±7,54	(23)9,6±0,33	0,372
Fosfatemia (mg/dl)	(84)3,45±0,55	(63)3,45±0,59	(22)3,58±0,41	0,602
PTH (pg/mL)	(187)49,37±25,93	(159)48,92±20,08	(57)48,92±20,23	0,980
Fosfatase alcalina (UI)	(185)72,77±30,89	(158)67,86±27,54	(56)64,96±21,66	0,114
Fração óssea (µg/L)	(151)11,75±6,98	(136)10,47±4,92	(53)10,4±4,44	0,129
Osteocalcina (ng/ml)	(142)7,3±7,01	(135)8,14±10,07	(38)4,57±4,31	0,063

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR para a população com Total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Observando a Tabela 4.24, podemos verificar que não existem resultados significativos para a relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros descritos.

Nas Tabelas 4.25, 4.26, 4.27 e 4.28, apresenta-se a relação entre o polimorfismo genético da MTHFR com os parâmetros antropométricos e metabólicos através da divisão nos três grupos de classificação de DMO (DMO normal, Osteopenia e Osteoporose) e da junção entre a Osteopenia ou Osteoporose.

Tabela 4.25 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos com DMO normal

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(79)29,72±5,23	(74)29,6±5,01	(32)29,35±5,36	0,945
Glicemia (mmol/L)	(66)97,26±35,25	(63)93,11±25,49	(30)96,6±36,36	0,746
Insulina (mcUI/mL)	(59)9,19±5,78	(60)8,72±5,14	(27)11,7±9,05	0,115
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(59)2,22±1,84	(59)2,1±1,58	(27)2,68±2,36	0,405
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(66)195,91±41,2	(60)197,65±38	(29)195,48±35,08	0,957
HDL (mg/mL)	(65)55,46±13,36	(58)58,52±15,39	(28)60,64±18,48	0,272
LDL (mg/mL)	(61)115,23±31,95	(55)116,38±33,8	(26)117,65±32,74	0,949
Triglicéridos (mg/ml)	(62)118,05±70,46	(60)113,83±56,15	(28)121,61±83,83	0,872
Calcemia (mg/dL)	(25)9,32±0,37	(16)9,66±1,14	(9)9,5±0,34	0,316
Fosfatemia (mg/dl)	(23)3,45±0,48	(14)3,51±0,54	(8)3,6±0,24	0,756
PTH (pg/mL)	(61)47,47±21,84	(56)45,16±19,75	(27)45,46±15,24	0,804
Fosfatase alcalina (UI)	(60)69,27±21,96	(53)62,98±20,67	(26)64,73±18,16	0,264
Fração óssea (µg/L)	(52)10,88±4,36	(48)9,83±3,73	(25)9,88±3,57	0,360
Osteocalcina (ng/ml)	(38)6,53±5,82	(39)5,74±5,88	(19)4,13±4,34	0,314

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Analisando a Tabela 4.25, podemos verificar que, para a população com DMO normal do polimorfismo genético da MTHFR, não existem diferenças significativas.

Tabela 4.26 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos com Osteopenia

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(79)27,57±5,08	(66)27,23±4,61	(15)28,07±6,47	0,823
Glicemia (mmol/L)	(62)101,52±49,95	(49)89,41±22,79	(13)108,39±37,02	0,170
Insulina (mcUI/mL)	(59)8,59±6,42	(46)8,09±4,89	(13)11,43±12,25	0,289
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(58)2,57±4,07	(45)1,9±1,59	(13)3,05±3,46	0,426
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(66)197,94±34,98	(49)196,31±40,96	(11)200,27±33,46	0,942
HDL (mg/mL)	(66)57,14±16,52	(49)58,82±15,26	(11)57,82±10,94	0,851
LDL (mg/mL)	(64)118,88±32,76	(46)116,26±36,68	(11)122,55±26,62	0,836
Triglicéridos (mg/ml)	(65)111,15±49,54	(48)106,27±67,14	(11)99,27±44,71	0,777
Calcemia (mg/dL)	(21)9,09±0,53	(18)9,35±0,24	(6)9,53±0,3	0,034
Fosfatemia (mg/dl)	(21)3,55±0,56	(19)3,52±0,56	(6)3,52±0,62	0,979
PTH (pg/mL)	(66)49,77±29,31	(49)45,31±20,18	(13)42,03±17,28	0,471
Fosfatase alcalina (UI)	(65)72,55±25,21	(52)66,58±24,55	(13)67,39±25,2	0,414
Fração óssea (µg/L)	(55)11,84±5,71	(48)10,27±4,68	(11)11,64±5,55	0,312
Osteocalcina (ng/ml)	(48)6,69±7,14	(47)6,87±6,5	(10)5,35±3,87	0,804

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Através da observação da Tabela 4.26 podemos verificar que existem resultados significativos para a Calcemia (p=0,034), na população com Osteopenia.

Tabela 4.27 - Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os Indivíduos com Osteoporose

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(73)27,28±4,46	(66)27,48±4,72	(19)27,27±4,49	0,964
Glicemia (mmol/L)	(64)98,61±45,22	(56)92,11±23,96	(17)98,12±46,67	0,628
Insulina (mcUI/mL)	(59)7,81±4,43	(53)7,41±4,46	(17)7,01±5,5	0,791
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(57)1,76±1,13	(50)1,75±1,31	(17)1,98±2,42	0,832
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(61)208,07±42,74	(52)201,46±37,74	(17)225,47±45,66	0,117
HDL (mg/mL)	(61)57,84±14,83	(49)57,9±12,44	(17)66,53±12,81	0,056
LDL (mg/mL)	(59)128,49±36,67	(48)123,19±36,36	(17)135,65±40,39	0,472
Triglicéridos (mg/ml)	(61)108,54±43,67	(51)111,31±54,07	(17)118,65±68,75	0,774
Calcemia (mg/dL)	(38)9,39±0,66	(31)11,33±10,9	(8)9,76±0,32	0,509
Fosfatemia (mg/dl)	(40)3,39±0,58	(30)3,38±0,65	(8)3,6±0,42	0,621
PTH (pg/mL)	(60)50,87±26,13	(54)56,09±18,67	(17)59,69±25,47	0,285
Fosfatase alcalina (UI)	(60)76,52±42,15	(53)74±34,74	(17)63,47±24,77	0,448
Fração óssea (µg/L)	(44)12,66±10,23	(40)11,48±6,27	(17)10,35±4,92	0,577
Osteocalcina (ng/ml)	(56)8,36±7,6	(49)11,28±14,1	(9)4,66±5,02	0,158

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Observando a tabela 4.27, podemos verificar que para a população com Osteoporose não existem resultados significativos entre o polimorfismo da MTHFR e os parâmetros descritos.

Tabela 4.28 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR e os parâmetros antropométricos, e metabólicos para os Indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(152)27,43±4,78	(132)27,36±4,65	(34)27,62±5,37	0,958
Glicemia (mmol/L)	(126)100,04±47,43	(105)90,85±23,34	(30)102,57±42,38	0,138
Insulina (mcUI/mL)	(118)8,2±5,51	(99)7,73±4,65	(30)8,92±9,15	0,589
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(115)2,17±3,01	(95)1,82±1,44	(30)2,44±2,91	0,406
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(127)202,8±39,07	(101)198,96±39,22	(28)215,57±42,51	0,146
HDL (mg/mL)	(127)57,47±15,67	(98)58,36±13,85	(28)63,11±12,66	0,186
LDL (mg/mL)	(123)123,49±34,88	(94)119,8±36,49	(28)130,5±35,66	0,365
Triglicéridos (mg/ml)	(126)109,89±46,62	(99)108,87±60,5	(28)111,04±60,29	0,979
Calcemia (mg/dL)	(59)9,28±0,63	(49)10,6±8,67	(14)9,66±0,32	0,463
Fosfatemia (mg/dl)	(61)3,45±0,57	(49)3,43±0,61	(14)3,56±0,49	0,749
PTH (pg/mL)	(126)50,29±27,73	(103)50,96±20,05	(30)52,04±23,68	0,935
Fosfatase alcalina (UI)	(125)74,46±34,31	(105)70,32±30,22	(30)65,17±24,6	0,301
Fração óssea (µg/L)	(99)12,2±8	(88)10,82±5,46	(28)10,86±5,12	0,329
Osteocalcina (ng/ml)	(104)7,59±7,4	(96)9,12±11,22	(19)5,02±4,34	0,160

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Observando a tabela 4.28, podemos verificar que para a população apresentando as patologias de Osteopenia ou Osteoporose, não existem resultados significativos na relação entre os parâmetros analisados e o polimorfismo da MTHFR.

4.4.3.1 Junção entre o genótipo heterozigótico e o homozigótico selvagem vs homozigótico mutado

Seguidamente à análise estatística realizada anteriormente, procedeu-se à análise da relação entre os parâmetros antropométricos e metabólicos e o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC ou CT e TT para a população total e para a divisão entre a classificação de DMO. Desta análise podemos verificar que não existem resultados significativos para a população com DMO normal, para os indivíduos com Osteopenia, e para a junção entre os indivíduos com Osteopenia e com Osteoporose.

Tabela 4.29 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC ou CT vs TT e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	CC ou CT	TT	P
	(N) Média ± desvio padrão	(N) Média ± desvio padrão	
HDL (mg/mL)	(348)57,52±14,69	(56)61,88±15,75	0,042
Osteocalcina (ng/ml)	(277)7,71±8,63	(38)4,57±4,31	0,001

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR agrupado em CC ou CT vs TT para a população total. Os valores para os genótipos e respetivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); HDL – lipoproteína de alta densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p < 0.05$.

Observando a Tabela 4.29, damos conta da existência de resultados significativos para o HDL ($p=0,042$) e para a Osteocalcina ($p=0,001$). No caso do HLD, são os indivíduos portadores do genótipo TT que possuem valores mais elevados de HLD quando comparados com os que possuem o genótipo CC ou CT. Já para a Osteocalcina, são os indivíduos portadores do genótipo CC ou CT que possuem os valores mais altos quando comparados com os TT.

Tabela 4.30 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC ou CT vs TT e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	CC ou CT	TT	P
	(N) Média ± desvio padrão	(N) Média ± desvio padrão	
HDL (mg/mL)	(110)57,86±13,75	(17)66,53±12,81	0,016

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR agrupado em CC ou CT vs TT para a população total. Os valores para os genótipos e respetivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); HDL – lipoproteína de alta densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p < 0.05$.

Através da análise da Tabela 4.30, podemos verificar resultados significativos para o parâmetro do HDL ($p=0,016$), estando as pessoas portadoras do genótipo TT associadas a um aumento do HDL por comparação com as portadoras do genótipo CC ou CT.

4.4.3.2 Genótipo homozigótico selvagem vs junção entre o heterozigótico e o homozigótico mutado

Como última análise deste polimorfismo, executou-se a análise da relação entre o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC e CT ou TT e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população total e para a divisão entre as classificações de DMO. Desta análise podemos concluir que, quando agrupamos o polimorfismo genético da MTHFR com a relação previamente descrita, não existem resultados significativos para os indivíduos com DMO normal, Osteoporose e para a junção da população com Osteopenia e Osteoporose.

Tabela 4.31 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC vs CT ou TT e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT ou TT (N) Média ± desvio padrão	P
Fosfatase alcalina (UI)	(185)72,77±30,89	(214)67,1±26,11	0,048
Fração óssea (µg/L)	(151)11,75±6,98	(189)10,45±4,78	0,043

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR agrupado em CC vs CT ou TT para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

No caso da População Total podemos verificar que se obtiveram resultados significativos para a Fosfatase alcalina (p=0,048) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina (p=0,043). Neste caso, são os indivíduos portadores do alelo CC que demonstram ter valores mais elevados para ambos os parâmetros significativos descritos anteriormente.

Tabela 4.32 – Relação entre o polimorfismo genético da MTHFR agrupado em CC vs CT ou TT e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	CC (N) Média ± desvio padrão	CT ou TT (N) Média ± desvio padrão	P
Calcemia (mg/dL)	(21)9,09±0,53	(24)9,4±0,26	0,022

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR agrupado em CC vs CT ou TT para a população total; Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Na Tabela 4.32, podemos verificar que existem resultados significativos para a Calcemia (p=0,022), sendo que neste caso, foram os indivíduos portadores do alelo TT (CT ou TT) que apresentaram valores mais altos.

4.4.4 Polimorfismo do GSTT1

Neste subponto encontram-se descritos os resultados para o polimorfismo genético do GSTT1, abordando-se todos os pontos enumerados na Figura 4.11.

Tabela 4.33 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTT1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(125) 28,27±5,13	(378) 28,21±4,99	0,902
Glicemia (mmol/L)	(99) 101,13±47,55	(321) 94,68±32,18	0,209
Insulina (mcUI/mL)	(91) 9,66±8,32	(302) 8,29±5,07	0,138
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(91) 2,60±3,67	(294) 1,99±1,59	0,126
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(101) 196,78±35,17	(310) 201,52±40,61	0,294
HDL (mg/mL)	(100) 58,95±15,33	(304) 57,85±14,77	0,523
LDL (mg/mL)	(96) 116,29±30,76	(291) 121,75±35,77	0,181
Triglicéridos (mg/ml)	(101) 113,47±55,57	(302) 112,01±60,58	0,831
Calcemia (mg/dL)	(41) 9,42±0,49	(131) 9,84±5,33	0,612
Fosfatemia (mg/dl)	(43) 3,50±0,60	(126) 3,45±0,53	0,592
PTH (pg/mL)	(97) 47,64±18,60	(306) 49,60±24,17	0,465
Fosfatase alcalina (UI)	(95) 69,63±25,09	(304) 69,76±29,56	0,969
Fração óssea (µg/L)	(84) 11,35±5,34	(256) 10,92±6,06	0,568
Osteocalcina (ng/ml)	(84) 7,20±6,30	(231) 7,38±8,91	0,861

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

A partir da análise da Tabela 4.33, pode-se observar que para a População Total não existem resultados significativos.

As Tabelas 4.34, 4.35, 4.36 e 4.37, mostra a relação entre o polimorfismo genético do GSTT1 com os parâmetros descritos previamente, através da divisão pela classificação de DMO.

Tabela 4.34 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTT1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com DMO normal

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(44) 30,66±4,84	(141) 29,28±5,20	0,121
Glicemia (mmol/L)	(34) 105,47±38,64	(125) 92,78±29,29	0,082
Insulina (mcUI/mL)	(31) 10,51±8,98	(115) 9,18±5,41	0,435
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(31) 2,66±2,57	(114) 2,15±1,592255	0,170
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(36) 197,92±36,67	(119) 196,08±39,38	0,803
HDL (mg/mL)	(36) 57,36±17,23	(115) 57,67±14,62	0,916
LDL (mg/mL)	(34) 117,65±32,08	(108) 115,64±32,90	0,755
Triglicéridos (mg/ml)	(36) 119,08±47,86	(114) 116,38±72,84	0,835
Calcemia (mg/dL)	(13) 9,64±0,57	(37) 9,40±0,75	0,298
Fosfatemia (mg/dl)	(14) 3,62±0,50	(31) 3,44±0,44	0,220
PTH (pg/mL)	(33) 44,05±18,68	(111) 46,83±20,21	0,482
Fosfatase alcalina (UI)	(33) 66,61±21,16	(106) 65,84±20,87	0,855
Fração óssea (µg/L)	(30) 10,40±4,13	(95) 10,24±3,95	0,851
Osteocalcina (ng/ml)	(24) 6,15±6,52	(72) 5,60±5,30	0,675

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

Da observação da Tabela 4.34, podemos afirmar que para a população com DMO normal, não existem resultados significativos em nenhuma das condições apresentadas, ou seja, na relação entre os parâmetros descritos e o polimorfismo genético da GSTT1.

Tabela 4.35 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTT1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteopenia

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(47) 27,26±4,51	(113) 27,57±5,22	0,727
Glicemia (mmol/L)	(35) 101,91±59,44	(89) 95,70±29,81	0,441
Insulina (mcUI/mL)	(34) 10,63±9,77	(84) 7,93±4,97	0,133
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(34) 3,29±5,35	(82) 1,98±1,69	0,173
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(36) 195,72±39,57	(90) 198,22±36,17	0,734
HDL (mg/mL)	(36) 61,61±15,10	(90) 56,34±15,54	0,086
LDL (mg/mL)	(35) 113,35±32,74	(86) 120,20±33,96	0,312
Triglicéridos (mg/ml)	(36) 107,89±70,09	(88) 108,34±50,12	0,968
Calcemia (mg/dL)	(12) 9,35±0,38	(33) 9,22±0,45	0,363
Fosfatemia (mg/dl)	(13) 3,57±0,59	(33) 3,52±0,55	0,802
PTH (pg/mL)	(36) 47,96±20,81	(92) 47,01±26,67	0,848
Fosfatase alcalina (UI)	(37) 72,24±28,20	(93) 68,61±23,58	0,456
Fração óssea (µg/L)	(36) 11,97±6,38	(78) 10,78±4,70	0,321
Osteocalcina (ng/ml)	(32) 5,64±3,46	(73) 7,08±7,53	0,183

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

Na Tabela 4.35, conseguimos verificar que, para a população com Osteopenia não existem resultados significativos para a relação entre os parâmetros analisados e o polimorfismo genético da GSTT1.

Tabela 4.36 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTT1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteoporose

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(34) 26,58±5,31	(124) 27,57±4,31	0,261
Glicemia (mmol/L)	(30) 95,30±41,73	(107) 96,06±37,12	0,924
Insulina (mcUI/mL)	(26) 7,37±4,38	(103) 7,58±4,63	0,837
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(26) 1,65±1,12	(98) 1,82±1,50	0,581
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(29) 196,69±27,85	(101) 210,86±44,35	0,041
HDL (mg/mL)	(28) 57,57±12,93	(99) 59,43±14,20	0,533
LDL (mg/mL)	(27) 118,41±27,01	(97) 129,93±39,07	0,083
Triglicéridos (mg/ml)	(29) 113,41±44,07	(100) 110,26±53,47	0,772
Calcemia (mg/dL)	(16) 9,29±0,46	(61) 10,45±7,77	0,553
Fosfatemia (mg/dl)	(16) 3,35±0,68	(62) 3,42±0,57	0,662
PTH (pg/mL)	(28) 51,47±14,94	(103) 54,90±25,09	0,364
Fosfatase alcalina (UI)	(25) 69,76±25,56	(105) 74,74±39,65	0,551
Fração óssea (µg/L)	(18) 11,67±4,86	(83) 11,83±8,61	0,938
Osteocalcina (ng/ml)	(28) 9,88±7,80	(86) 9,14±11,73	0,758

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

Para a população com Osteoporose obtiveram-se resultados significativos para o Colesterol_{Total} (*p*=0,041). Neste caso, são os indivíduos portadores do alelo “Não nulo” que demonstram ter valores mais altos.

Tabela 4.37 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTT1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(81) 26,98±4,84	(237) 27,57±4,76	0,335
Glicemia (mmol/L)	(65) 98,86±51,74	(196) 95,89±33,91	0,596
Insulina (mcUI/mL)	(60) 9,22±8,01	(187) 7,74±4,78	0,179
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(60) 2,57±4,15	(180) 1,89±1,587	0,219
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(65) 196,15±34,58	(191) 204,91±41,09	0,125
HDL (mg/mL)	(64) 59,84±14,23	(189) 57,96±14,89	0,378
LDL (mg/mL)	(62) 115,55±30,25	(183) 125,36±36,98	0,061
Triglicéridos (mg/ml)	(65) 110,35±59,53	(188) 109,36±51,80	0,898
Calcemia (mg/dL)	(28) 9,31±0,42	(94) 10,02±6,28	0,556
Fosfatemia (mg/dl)	(29) 3,45±0,64	(95) 3,46±0,56	0,941
PTH (pg/mL)	(64) 49,49±18,42	(195) 51,18±26,08	0,633
Fosfatase alcalina (UI)	(62) 71,24±26,98	(198) 71,86±33,15	0,893
Fração óssea (µg/L)	(54) 11,87±5,87	(161) 11,32±6,99	0,606
Osteocalcina (ng/ml)	(60) 7,62±6,22	(159) 8,19±10,05	0,678

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

Da Tabela 4.37, pode concluir-se que, para a junção dos indivíduos portadores de Osteopenia ou Osteoporose, não existem resultados significativos entre os parâmetros descritos e o polimorfismo genético do GSTT1.

4.4.5 Polimorfismo do GSTM1

Em seguida apresentamos os resultados descritos para o polimorfismo genético do GSTM1, de acordo com os pontos presentes na Figura 4.11.

Tabela 4.38 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTM1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(235)28,34±5,02	(268)28,12±5,03	0,618
Glicemia (mmol/L)	(201)97,34±38,86	(219)95,16±34,11	0,540
Insulina (mcUI/mL)	(189)8,87±6,54	(204)8,36±5,45	0,405
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(186)2,32±2,8	(199)1,96±1,62	0,126
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(197)200,63±38,98	(214)200,09±39,78	0,889
HDL (mg/mL)	(194)58,39±15,02	(210)57,88±14,81	0,734
LDL (mg/mL)	(184)120,19±32,85	(203)120,58±36,26	0,912
Triglicéridos (mg/ml)	(194)114,67±59,93	(209)110,24±58,78	0,455
Calcemia (mg/dL)	(80)10,15±6,79	(92)9,39±0,65	0,290
Fosfatemia (mg/dl)	(77)3,59±0,55	(92)3,36±0,53	0,005
PTH (pg/mL)	(186)49,11±22,12	(217)49,14±23,69	0,991
Fosfatase alcalina (UI)	(186)71,92±34,17	(213)67,82±22,39	0,164
Fração óssea (µg/L)	(153)11,76±7,29	(187)10,42±4,34	0,046
Osteocalcina (ng/ml)	(154)7,69±7,79	(161)7±8,75	0,461

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTM1 para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

A Tabela 4.38 demonstra resultados significativos para a Fosfatemia (p=0,005) e para a Fração óssea da fosfatase alcalina (p=0,046). Pode ainda mencionar-se que os indivíduos portadores do genótipo “Nulo” apresentam valores mais elevados tanto para a Fosfatemia como para a Fração óssea da fosfatase alcalina, quando comparados com os dados do genótipo “Não nulo”.

As Tabelas 4.39, 4.40, 4.41 e 4.42, mostram a relação entre o polimorfismo genético do GSTM1 com os parâmetros descritos, através da divisão pela classificação de DMO.

Tabela 4.39 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTM1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com DMO normal

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(78)29,72±5,37	(107)29,52±4,98	0,795
Glicemia (mmol/L)	(71)97,46±35,38	(88)93,9±28,74	0,484
Insulina (mcUI/mL)	(64)8,98±6,27	(82)9,84±6,37	0,419
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(64)2,19±1,89	(81)2,3±1,82	0,724
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(70)197,77±39,41	(85)195,46±38,23	0,712
HDL (mg/mL)	(69)57,61±16,38	(82)57,59±14,27	0,993
LDL (mg/mL)	(64)118,83±30,94	(78)113,9±33,94	0,372
Triglicéridos (mg/ml)	(68)112,24±60,47	(82)121±73,03	0,431
Calcemia (mg/dL)	(23)9,37±0,52	(27)9,54±0,85	0,413
Fosfatemia (mg/dl)	(20)3,66±0,44	(25)3,36±0,44	0,032
PTH (pg/mL)	(59)47,51±21,24	(85)45,28±18,88	0,509
Fosfatase alcalina (UI)	(58)66,84±21,15	(81)65,43±20,77	0,695
Fração óssea (µg/L)	(52)10,69±4,18	(73)9,99±3,82	0,330
Osteocalcina (ng/ml)	(39)5,72±6,02	(57)5,75±5,36	0,977

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTM1 para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

A Tabela 4.39 mostra que para a população com DMO normal, existem resultados significativos para a Fosfatemia ($p=0,032$), sendo que são os indivíduos portadores do genótipo “Nulo” que apresentam valores mais elevados de fosfatemia.

Tabela 4.40 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTM1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	Nulo (N) Média \pm desvio padrão	Não nulo (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(77)28,11 \pm 4,63	(83)26,89 \pm 5,3	0,126
Glicemia (mmol/L)	(60)103,53 \pm 51,58	(64)91,75 \pm 24,56	0,112
Insulina (mcUI/mL)	(58)9,42 \pm 8,19	(60)8,02 \pm 5,05	0,267
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(58)2,87 \pm 4,28	(58)1,86 \pm 1,6	0,097
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(59)199,02 \pm 36,24	(67)196,18 \pm 37,94	0,670
HDL (mg/mL)	(59)58,19 \pm 16,01	(67)57,55 \pm 15,24	0,820
LDL (mg/mL)	(56)116,99 \pm 31,45	(65)119,28 \pm 35,6	0,710
Triglicéridos (mg/ml)	(58)119,76 \pm 66,73	(66)98,06 \pm 43,36	0,037
Calcemia (mg/dL)	(18)9,21 \pm 0,37	(27)9,28 \pm 0,48	0,619
Fosfatemia (mg/dl)	(18)3,62 \pm 0,63	(28)3,48 \pm 0,51	0,404
PTH (pg/mL)	(56)45,19 \pm 20,82	(72)48,9 \pm 28	0,409
Fosfatase alcalina (UI)	(59)70,44 \pm 27,4	(71)68,99 \pm 22,85	0,742
Fração óssea (μ g/L)	(49)11,76 \pm 6,27	(65)10,71 \pm 4,41	0,321
Osteocalcina (ng/ml)	(53)7,97 \pm 8,43	(52)5,28 \pm 3,45	0,036

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTM1 para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p<0,05$.

A Tabela 4.40, demonstra resultados significativos para os Triglicéridos ($p=0,037$) e para a Osteocalcina ($p=0,036$). Em ambos os casos, são os indivíduos portadores do genótipo “Nulo” que apresentam valores mais altos.

Tabela 4.41 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTM1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	Nulo (N) Média \pm desvio padrão	Não nulo (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(80)27,23 \pm 4,76	(78)27,5 \pm 4,34	0,709
Glicemia (mmol/L)	(70)91,9 \pm 27,71	(67)100,06 \pm 46,27	0,216
Insulina (mcUI/mL)	(67)8,28 \pm 5,08	(62)6,74 \pm 3,82	0,052
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(64)1,96 \pm 1,58	(60)1,6 \pm 1,22	0,158
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(68)204,99 \pm 40,97	(62)210,68 \pm 42,36	0,438
HDL (mg/mL)	(66)59,38 \pm 12,6	(61)58,64 \pm 15,28	0,766
LDL (mg/mL)	(64)124,36 \pm 35,84	(60)130,68 \pm 38,21	0,343
Triglicéridos (mg/ml)	(68)112,76 \pm 53,55	(61)108,97 \pm 49,17	0,677
Calcemia (mg/dL)	(39)11,03 \pm 9,7	(38)9,36 \pm 0,6	0,293
Fosfatemia (mg/dl)	(39)3,55 \pm 0,57	(39)3,26 \pm 0,58	0,031
PTH (pg/mL)	(71)53,54 \pm 23,33	(60)54,9 \pm 23,41	0,741
Fosfatase alcalina (UI)	(69)77,45 \pm 45,89	(61)69,64 \pm 23,97	0,235
Fração óssea (μ g/L)	(52)12,85 \pm 10,08	(49)10,69 \pm 4,98	0,181
Osteocalcina (ng/ml)	(62)8,69 \pm 8,1	(52)10,08 \pm 13,5	0,498

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTM1 para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p<0,05$.

Observando-se a Tabela 4.41, verificamos resultados significativos para a Fosfatemia ($p=0,031$), sendo que são os indivíduos portadores do genótipo “Nulo” que possuem valores mais elevados de Fosfatemia. Podemos ainda verificar uma tendência para valores mais elevados de insulina neste mesmo grupo ($p=0,052$).

Tabela 4.42 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTM1 e os parâmetros antropométricos, e metabólicos para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Nulo (N) Média ± desvio padrão	Não nulo (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(157)27,66±4,7	(161)27,19±4,85	0,379
Glicemia (mmol/L)	(130)97,27±40,76	(131)96±37,37	0,793
Insulina (mcUI/mL)	(125)8,81±6,7	(122)7,37±4,49	0,047
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(122)2,39±3,18	(118)1,73±1,42	0,038
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(127)202,21±38,81	(129)203,15±40,62	0,851
HDL (mg/mL)	(125)58,82±14,26	(128)58,07±15,21	0,688
LDL (mg/mL)	(120)120,92±33,93	(125)124,75±37,17	0,400
Triglicéridos (mg/ml)	(126)115,98±59,83	(127)103,3±46,38	0,061
Calcemia (mg/dL)	(57)10,46±8,04	(65)9,33±0,55	0,260
Fosfatemia (mg/dl)	(57)3,57±0,58	(67)3,35±0,56	0,036
PTH (pg/mL)	(127)49,86±22,56	(132)51,63±26,09	0,561
Fosfatase alcalina (UI)	(128)74,22±38,51	(132)69,29±23,29	0,215
Fração óssea (µg/L)	(101)12,32±8,42	(114)10,7±4,64	0,089
Osteocalcina (ng/ml)	(115)8,36±8,23	(104)7,68±10,1	0,586

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTM1 para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Da Tabela 4.42, é possível verificar-se resultados significativos para a Insulina (p=0,047), para o HOMA_{IR} (p=0,038) e para a Fosfatemia (p=0,036). São os indivíduos portadores do genótipo “Nulo” que apresentam valores superiores.

4.4.6 Polimorfismo do GSTP1

Esta seção analisa os resultados para o Polimorfismo genético do GSTP1, através da ordem da Figura 4.11.

Tabela 4.43 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(197)28,52±5,06	(250)27,99±4,95	(56)28,21±5,23	0,542
Glicemia (mmol/L)	(165)94,47±27,13	(208)96,63±41,76	(47)100,34±39,85	0,605
Insulina (mcUI/mL)	(151)8,48±6,36	(195)8,66±5,83	(47)8,77±5,56	0,943
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(149)2,02±1,9	(190)2,22±2,66	(46)2,18±1,58	0,716
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(165)201,03±39,2	(201)200,94±39,92	(45)195,24±37,78	0,654
HDL (mg/mL)	(163)58,61±15,2	(197)58,03±14,84	(44)56,73±14,2	0,753
LDL (mg/mL)	(156)120,55±34,66	(189)121,17±35,08	(42)116,33±33,05	0,714
Triglicéridos (mg/ml)	(163)110,63±59,06	(198)112,79±53,83	(42)117,17±82,08	0,809
Calcemia (mg/dL)	(61)9,42±0,4	(91)10,07±6,39	(20)9,24±0,69	0,618
Fosfatemia (mg/dl)	(60)3,47±0,52	(90)3,44±0,55	(19)3,58±0,61	0,578
PTH (pg/mL)	(157)50,36±22,19	(197)47,79±20,59	(49)50,56±32,62	0,519
Fosfatase alcalina (UI)	(154)70,62±27,76	(199)67,39±22,06	(46)76,89±48,57	0,111
Fração óssea (µg/L)	(132)10,76±4,67	(168)10,94±5,02	(40)12,28±10,86	0,349
Osteocalcina (ng/ml)	(125)6,72±8,99	(156)7,54±7,88	(34)8,65±7,41	0,441

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Na Tabela 4.43, podemos observar que para a População Total não existem resultados significativos, quando se relaciona o polimorfismo genético GSTP1 e os parâmetros descritos.

As Tabelas 4.44, 4.45, 4.46 e 4.47, exibe a relação entre o polimorfismo genético do GSTP1 com os parâmetros descritos, através da divisão pela classificação de DMO.

Tabela 4.44 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com DMO normal

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(68)30,4±5,08	(97)28,97±5,14	(20)29,98±5,15	0,201
Glicemia (mmol/L)	(58)98,91±34,89	(83)90,81±24,24	(18)106,06±47,23	0,108
Insulina (mcUI/mL)	(52)9,32±6,79	(76)9,25±5,99	(18)10,81±6,47	0,631
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(52)2,35±2,26	(75)2,11±1,61	(18)2,57±1,43	0,573
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(59)204,12±43,5	(77)192,95±35,86	(19)187,26±30,36	0,134
HDL (mg/mL)	(59)56,58±14,03	(74)59,14±16,35	(18)54,61±14,14	0,427
LDL (mg/mL)	(55)123,98±37,37	(70)111,7±29,34	(17)108,88±24,18	0,069
Triglicéridos (mg/ml)	(58)112,5±66,17	(75)114,76±56,82	(17)142,47±105,72	0,253
Calcemia (mg/dL)	(13)9,42±0,31	(31)9,51±0,83	(6)9,3±0,73	0,797
Fosfatemia (mg/dl)	(12)3,61±0,35	(28)3,43±0,51	(5)3,6±0,37	0,048
PTH (pg/mL)	(53)48,62±20,45	(74)45,96±20,29	(17)39,66±14,64	0,268
Fosfatase alcalina (UI)	(51)67,22±24,21	(71)64,04±17,22	(17)70,71±24,09	0,439
Fração óssea (µg/L)	(48)10,46±4,65	(62)10,16±3,59	(15)10,2±3,32	0,925
Osteocalcina (ng/ml)	(35)4,82±4,41	(50)6,52±6,46	(11)5,07±4,59	0,356

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Na Tabela 4.44, podemos verificar que os indivíduos com DMO normal do polimorfismo genético do GSTP1 possuem resultados significativos para a Fosfatemia (p=0,048).

Tabela 4.45 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteopenia

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(65)27,93±4,65	(80)26,98±5,01	(15)28,2±6,43	0,447
Glicemia (mmol/L)	(50)92,04±18,33	(63)100,71±50,03	(11)103,36±50,14	0,463
Insulina (mcUI/mL)	(45)9,3±7,82	(61)8,34±6,39	(12)8,36±4,4	0,763
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(45)2,21±2,19	(60)2,48±4,07	(11)2,34±1,73	0,913
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(52)197,63±35,65	(62)195,87±36,9	(12)205,42±45,35	0,719
HDL (mg/mL)	(52)59,25±17,29	(62)56,32±14,34	(12)59,67±13,89	0,055
LDL (mg/mL)	(50)117,92±31,04	(59)117,48±33,86	(12)123,08±44,35	0,870
Triglicéridos (mg/ml)	(52)109,17±61,45	(61)105,74±50,64	(11)117,36±65,38	0,812
Calcemia (mg/dL)	(19)9,36±0,33	(23)9,23±0,45	(3)8,77±0,67	0,081
Fosfatemia (mg/dl)	(19)3,46±0,57	(24)3,55±0,54	(3)3,88±0,63	0,479
PTH (pg/mL)	(50)43,85±17,23	(64)46,6±20,49	(14)62,56±51,93	0,044
Fosfatase alcalina (UI)	(52)71,85±23,76	(66)67,02±23,96	(12)74,58±34,43	0,450
Fração óssea (µg/L)	(45)11,27±4,99	(57)10,82±5,09	(12)12,33±7,34	0,662
Osteocalcina (ng/ml)	(42)5,51±3,57	(54)7,42±8,01	(9)7,19±7,75	0,361

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Através da análise da Tabela 4.45, é possível verificar-se que existem resultados significativos para a PTH (p=0,044) na população com Osteopenia do polimorfismo genético do GSTP1.

Tabela 4.46 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteoporose

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(64)27,13±4,9	(73)27,8±4,41	(21)26,52±3,87	0,459
Glicemia (mmol/L)	(57)92,09±24,32	(62)100,29±50,08	(18)92,78±22,05	0,471
Insulina (mcUI/mL)	(54)6,99±3,99	(58)8,24±4,98	(17)6,89±4,76	0,294
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(52)1,52±0,91	(55)2,08±1,72	(17)1,65±1,57	0,119
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(54)200,93±37,95	(62)215,94±43,87	(14)197,36±40,27	0,093
HDL (mg/mL)	(52)60,29±14,27	(61)58,43±13,44	(14)56,93±15,09	0,654
LDL (mg/mL)	(51)119,43±35,36	(60)135,85±38,04	(13)119,85±31,8	0,048
Triglicéridos (mg/ml)	(53)110,02±48,55	(62)117,35±53,34	(14)86,29±48,34	0,122
Calcemia (mg/dL)	(29)9,46±0,47	(37)11,06±9,98	(11)9,34±0,69	0,590
Fosfatemia (mg/dl)	(29)3,42±0,56	(38)3,37±0,59	(11)3,49±0,7	0,824
PTH (pg/mL)	(54)58,11±25,71	(59)51,37±20,97	(18)51,52±22,41	0,270
Fosfatase alcalina (UI)	(51)72,78±34,31	(62)71,61±24,42	(17)84,71±71,62	0,430
Fração óssea (µg/L)	(39)10,54±4,39	(49)12,06±6,25	(13)14,62±17,6	0,276
Osteocalcina (ng/ml)	(48)9,16±13,34	(52)8,64±8,94	(14)12,4±7,67	0,517

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Observando-se a Tabela 4.46, pode observar-se resultados significativos para o LDL (p=0,048) na população com Osteoporose.

Tabela 4.47 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(129)27,53±4,77	(153)27,37±4,74	(36)27,22±5,08	0,928
Glicemia (mmol/L)	(107)92,07±21,63	(125)100,5±49,85	(29)96,79±34,93	0,261
Insulina (mcUI/mL)	(99)8,04±6,12	(119)8,29±5,72	(29)7,5±4,59	0,798
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(97)1,84±1,66	(115)2,29±3,16	(28)1,92±1,64	0,405
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(106)199,31±36,7	(124)205,9±41,61	(26)201,08±42,01	0,445
HDL (mg/mL)	(104)59,77±15,78	(123)57,37±13,89	(26)58,19±14,32	0,472
LDL (mg/mL)	(101)118,68±33,14	(119)126,74±37,04	(25)121,4±37,55	0,242
Triglicéridos (mg/ml)	(105)109,6±55,05	(123)111,59±52,13	(25)99,96±57,4	0,617
Calcemia (mg/dL)	(48)9,42±0,42	(60)10,36±7,85	(14)9,21±0,7	0,614
Fosfatemia (mg/dl)	(48)3,44±0,56	(62)3,44±0,58	(14)3,57±0,69	0,721
PTH (pg/mL)	(104)51,25±23,08	(123)48,89±20,77	(32)56,35±37,91	0,295
Fosfatase alcalina (UI)	(103)72,31±29,32	(128)69,24±24,2	(29)80,52±58,5	0,219
Fração óssea (µg/L)	(84)10,93±4,71	(106)11,4±5,66	(25)13,52±13,45	0,238
Osteocalcina (ng/ml)	(90)7,46±10,16	(106)8,02±8,46	(23)10,36±7,96	0,399

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTT1 para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – ANOVA; Valores significativos para p<0.05.

Da Tabela 4.47, pode concluir-se que para a junção entre os indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose não existem resultados significativos.

4.4.6.1 Junção entre o genótipo heterozigótico e o homozigótico selvagem vs homozigótico mutado

Imediatamente à análise estatística realizada previamente prosseguiu-se à análise da relação entre os parâmetros antropométricos, e metabólicos e o polimorfismo genético do GSTP1 agrupado em AA ou AG e GG para a população total e para a divisão entre a classificação de DMO. Através desta podemos confirmar que não existem resultados significativos para a População Total, para os indivíduos com DMO normal, com Osteoporose, e para a junção entre os indivíduos com Osteopenia e com Osteoporose.

Tabela 4.48 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 agrupado em AA ou AG vs GG e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteopenia

Parâmetros	AA ou AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
Calcemia (mg/dL)	(42)9,29±0,4	(3)8,77±0,67	0,044

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 agrupado em AA ou AG vs GG para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

No caso da Osteopenia, verificam-se resultados significativos para a Calcemia (p=0,044), em que são os indivíduos portadores do genótipo AA ou AG os que apresentam valores mais elevados.

4.4.6.1 Genótipo homozigótico selvagem vs junção entre o heterozigótico e o homozigótico mutado

Finalmente, executou-se a análise da relação entre o polimorfismo genético do GSTP1 agrupado em AA e AG ou GG e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a população total e para a divisão entre as classificações de DMO. Desta análise podemos verificar que, quando agrupamos o polimorfismo genético do GSTP1 com a relação previamente descrita, não existem resultados significativos para a População Total, para a população com Osteopenia e para a junção da população com Osteopenia e Osteoporose.

Tabela 4.49 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 agrupado em AA vs AG ou GG e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com DMO normal

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG ou GG (N) Média ± desvio padrão	P
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(59)204,12±43,5	(96)191,82±34,77	0,054
LDL (mg/mL)	(55)123,98±37,37	(87)111,15±28,3	0,032

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 agrupado em AA vs AG ou GG para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); LDL – Lipoproteína de baixa densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

A Tabela 4.49, mostra os resultados significativos para o LDL (p=0,032), em que são os indivíduos portadores do genótipo AA que possuem maiores níveis de LDL. Podemos também verificar que existe uma tendência para o Colesterol_{Total} ser estatisticamente significativa (p=0,054), com valores mais altos para os AA.

Tabela 4.50 – Relação entre o polimorfismo genético da GSTP1 agrupado em AA; AG ou GG e os parâmetros antropométricos e metabólicos para os indivíduos com Osteoporose

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG ou GG (N) Média ± desvio padrão	P
HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol)	(52)1,52±0,91	(72)1,98±1,68	0,055
LDL (mg/mL)	(51)119,43±35,36	(73)133±37,32	0,044

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 agrupado em AA vs AG ou GG para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); LDL – Lipoproteína de baixa densidade; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para $p < 0.05$.

Analisando-se a Tabela 4.50, podemos verificar resultados significativos para o LDL ($p=0,044$), sendo os indivíduos portadores dos genótipos AG ou GG os que possuem valores mais elevados. Existe ainda uma tendência para valores mais elevados de HOMA_{IR} ($p=0,055$) para o mesmo grupo.

5 Discussão

O osso é a estrutura mais importante do corpo humano e é formado por tecido ósseo que possui elementos como o cálcio e as fibras de colagénio. Juntamente com as cartilagens, o osso forma o esqueleto humano e possui funções como sustentação de tecidos moles, proteção dos órgãos, mobilidade, armazenamento, entre outras. Atualmente o osso tem surgido como sendo um órgão endócrino capaz de produzir substâncias que posteriormente vão ser libertadas na corrente sanguínea, através de hormonas como a Osteocalcina e o Fator de Crescimento Fibroblástico.³ No entanto para que o osso seja restaurado/reparado após fratura e para que haja uma manutenção óssea é necessário que haja um processo de remodelação óssea. Este processo é regulado por hormonas reguladoras do metabolismo, como as que regulam a disponibilidade do cálcio, PTH, calcitriol, glucocorticoides, esteroides sexuais, entre outras.^{7,178}

A população estudada foi analisada no seu total e depois dividida de acordo com a DMO (DMO normal, Osteopenia, Osteoporose, e “grupo com massa óssea reduzida” - Osteopenia e Osteoporose), tendo estas sub-populações sido também estudadas separadamente. Os parâmetros de DMO foram também relacionados com parâmetros antropométricos, sociodemográficos, metabólicos e com os polimorfismos genéticos.

Os polimorfismos estudados foram selecionados com base na sua relação com a via da HCys (vias de transsulfuração e transmetilação), isto porque a HCys é um aminoácido que se encontra associado à Osteoporose através da doença da homocistinúria hereditária. Como vimos anteriormente, esta doença ocorre devido a níveis elevados de homocisteína no sangue que, por sua vez, aumenta o risco de fraturas osteoporóticas independentemente da DMO.^{7,81}

5.1 Caraterização da população

Homens e mulheres apresentam hormonas/esteroides sexuais diferentes, que induzem alterações no corpo humano ao longo dos tempos. Para além das alterações visíveis, existem também alterações a nível do tecido ósseo, como é o caso da estimulação do crescimento dos ossos longos após a puberdade, o aumento da atividade dos osteoblastos, a inibição da formação/atividade dos osteoclastos, entre outras.^{7,9} Apesar de muitos autores darem conta que a Osteoporose é influenciada pelo género ($p=0,098$), idade e estado de menopausa, no estudo efetuado neste trabalho de dissertação apenas a idade ($p=0,000$) foi considerada como significativa, verificando-se a existência de um aumento da perda da massa óssea com a idade, numa população maioritariamente do género feminino [379 mulheres (75,3%) e 124 homens (24,7%)] e com idade média de 55,41 anos ($\pm 14,05$ anos).

A Osteoporose é atualmente um problema de saúde pública de enorme importância, pois encontra-se relacionada com outras patologias, como é o caso da Obesidade e da DM.^{179,180} Em relação à Obesidade, esta encontra-se estritamente relacionada com a Osteoporose, partilhando ambas fatores genéticos e ambientais, dado que, contrariamente ao senso comum, a Obesidade é na verdade um fator de proteção contra a Osteoporose. Isto acontece porque o aumento do peso corporal (massa magra) de um indivíduo, devido à sua constante interação com o esqueleto, proporciona um reforço ósseo e um aumento da DMO, o que consequentemente vai diminuir o risco para a Osteoporose.^{106,179} Por outro lado, o aumento do risco para Osteoporose acontece quando existe elevada resistência à insulina e acumulação de massa gorda abdominal independentemente do IMC, levando a uma redução da DMO.^{7,9,106,179} No caso da população em estudo, a relação da análise dos parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos com a classificação de DMO demonstra que existe uma diminuição do IMC e da insulina, associada à perda de massa óssea, usual nos doentes com Osteoporose, dado que o IMC ($p=0,000$) e a insulina ($p=0,028$) são significativos, indo de encontro com os resultados esperados.

Outro fator a ter em conta é o Colesterol_{Total} (soma do VLDL, LDL e HDL) que, quando apresenta valores elevados, representa um maior risco para doenças como as cardiovasculares. Como vimos

anteriormente, o colesterol é constituinte dos lipídios (em particular na membrana), dado que interage com o metabolismo ósseo.^{107,108} Esta relação acontece essencialmente porque as lipoproteínas transportam vitaminas lipossolúveis essenciais ao metabolismo ósseo, e porque a gordura possui células MSC na medula óssea, que posteriormente se diferenciam em células como os adipócitos.^{181,182} Sabe-se que, quanto mais adipócitos se formam, menos osteoblastos existem, e consequentemente menos formação óssea existe, provocando um aumento da perda óssea e de risco para a Osteoporose, dado que não existe formação óssea suficiente para repor a que foi absorvida.^{107,108,111} Para além disso, sabe-se que o colesterol alto e o colesterol das LDL são um fator para a suscetibilidade para a Osteoporose (pode ajudar no seu diagnóstico), dado que, o colesterol encontra-se articulado com o aumento do risco para o cancro, uma vez que, o ambiente ósseo osteoporótico pode ser um fator de predisposição para o crescimento metastático de células cancerígenas (metástase óssea induzida pelo cancro).¹⁸¹

É ainda possível perceber-se que as alterações que acontecem na quantidade de colesterol da membrana podem influenciar as vias de sinalização nas células, uma vez que, as estatinas²¹ podem regular as funções osteoblásticas/osteoclásticas (aumentando/diminuição da deteriorização do osso), pelo que existem estudos que mostram que as estatinas podem estar relacionadas com a diminuição do risco para as fraturas e com o aumento da DMO. Assim, parecem existir resultados contraditórios, dado que o colesterol está mais correlacionado com a diminuição da DMO sendo que ao diminuir a via da osteoclastogénese, aumenta a função osteoclástica das células, levando a uma maior reabsorção óssea, apesar de a toma de estatinas poder estar associadas com um aumento da DMO.¹⁸¹

Para a população em estudo, os resultados obtidos encontram-se de acordo com o descrito na literatura^{107,108,181}, dado que o Colesterol_{Total} ($p=0,035$) e o LDL ($p=0,020$) encontram-se aumentados com a perda de massa óssea. Desta relação é assim possível constatar que o osso é um órgão endócrino que se encontra em interação com muitos metabolismos, nomeadamente o lipídico.

Os marcadores de formação óssea da PTH e da OC encontram-se também associados à Osteoporose, pois estes estão relacionados com a formação do osso. Sabe-se que a PTH aumenta indiretamente a proliferação osteoblástica através da regulação da homeostase do cálcio, estimula a formação óssea e aumenta a reabsorção do osso.^{15,29,71} Isto acontece porque a PTH liga-se a recetores nos osteoblastos, que posteriormente vão sinalizar as células para aumentarem a secreção de RANKL, com ativação dos osteoclastos.^{29,71,183} No entanto, pode haver uma disfunção na síntese de matriz óssea devido à produção excessiva de PTH, permitindo um aumento da sua concentração nos indivíduos com Osteoporose.¹⁸⁴ Por outro lado, a OC é a segunda proteína mais abundante no osso. Esta é sintetizada pelos osteoblastos, segregada do osso para a circulação, e encontra-se associada a um aumento da formação/remodelação óssea, pelo que um aumento dos níveis de OC está associado a um aumento da formação óssea.^{60,61,103,185} Assim, aumentos da concentração de OC podem estar associados a uma compensação de formação óssea na Osteoprose, e portanto, nesta doença, os níveis de OC encontram-se geralmente aumentados.^{15,60,103} Os resultados obtidos neste estudo para a PTH ($p=0,008$) e para a OC ($p=0,004$) vão de encontro aos descritos na literatura, já que ambos se encontram aumentados em associação com a perda de massa óssea.

No caso do cálcio/calcemia, este é um dos elementos mais importantes no esqueleto humano e encontra-se maioritariamente nos ossos.^{57,69,186} Se não existir reposição óssea aquando da reabsorção, a concentração de cálcio no organismo vai diminuir, encontrando-se assim uma concentração de cálcio baixa em doentes com Osteoporose.¹⁸⁶ Como vimos anteriormente, a combinação cálcio/vitamina D é um dos tratamentos mais eficazes para a Osteoporose, sendo que, quando esta combinação é usada como meio de suplementação, dá-se conta de uma redução do risco de fraturas nos doentes.^{7,9,72} Note-se ainda que o cálcio em circulação e os fosfatos são antagónicos, ou seja, quando a quantidade de um aumenta, a do outro diminui, e assim a relação de absorção destes elementos tem de ser igual a um (relação

²¹ São drogas redutoras de colesterol.

cálcio/fosfato=1) para que a absorção de ambos seja eficaz e haja uma correta mineralização, dada a interação destes elementos com o osso.^{186,187} Para a população em estudo, observou-se que o cálcio/Calcemia ($p=0,042$) encontra-se diminuído na população com Osteoporose, o que confirma os resultados descritos na literatura.

Relativamente à análise dos parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para as populações DMO normal *versus* Osteopenia ou Osteoporose, realizou-se um ajuste para a idade e para o IMC, pois os grupos estudados diferem nestes dois parâmetros e mostram uma significância de $p=0,000$, influenciando o risco para a Osteoporose.

Com este ajuste damos conta que alguns parâmetros metabólicos deixam de ser significativos (insulina, osteocalcina), outros passam a ser significativos (fração óssea – $p=0,031$) e outros são sempre significativos (Fosfatase alcalina – $p=0,032$; $p^*=0,043$). Tanto a fosfatase alcalina como a fração óssea encontram-se aumentados na população com DMO reduzida (massa óssea reduzida). Isto acontece porque a fosfatase alcalina (e consequentemente a $FA_{\text{Fração óssea}}$) é um mecanismo compensatório de reposição de massa óssea, que se encontra envolvido na mineralização da matriz óssea e que é diminuído quando existe uma taxa de formação óssea baixa, sendo um dos marcadores de formação óssea mais eficaz.^{15,188} Quando se relaciona a fosfatase alcalina com a Osteoporose sabe-se que os valores deste marcador encontram-se aumentados quando existem fraturas e/ou doenças ósseas, pelo que os resultados obtidos vão ao encontro dos presentes na literatura. Isso acontece pois, com o avançar da idade e com o avançar da degradação do osso (osso saudável-Osteopénia-Osteoporose), é necessário que haja um mecanismo de compensação para interromper a atividade osteoclástica, através da iniciação do processo de formação óssea, levando a níveis aumentados de fosfatase alcalina sérica.^{180,188,189}

5.2 Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros Metabólicos

Como vimos anteriormente, o osso é um órgão que se encontra em constante transformação/evolução e que se readapta consoante as suas necessidades mecânicas e fisiológicas. Para que essa adaptação ocorra é necessário que haja um mecanismo/ciclo de remodelação óssea em que ocorre a reabsorção de osso antigo e a formação/deposição de osso novo.^{12,109} É através deste ciclo que se percebe se há um aumento ou redução da quantidade óssea e se o osso está ou não em homeostase, ou seja, se a quantidade de osso que está a ser reabsorvido está a ser depositado nas mesmas quantidades. Sabe-se que até cerca dos 30 anos de idade o balanço deste ciclo é positivo, atingindo-se o pico de massa óssea, e a partir desta idade o balanço é negativo, havendo um decréscimo de massa óssea, sendo a quantidade de osso depositada inferior à absorvida, tornando o osso menos denso.^{29,113,115} Assim, a remodelação óssea é essencial para a qualidade do esqueleto e para que haja uma manutenção da resistência óssea e da homeostasia mineral.^{13,109,190} É possível realizar-se a avaliação do estado ósseo de um indivíduo através de, por exemplo, marcadores de formação óssea como a PTH, FA, $FA_{\text{Fração óssea}}$ e OC.

A análise dos parâmetros metabólicos dos lípidos e da glicemia é importante pois esta mostra que o organismo humano funciona como um todo, existindo uma constante interação entre os diversos metabolismos para o correto funcionamento do nosso organismo.

Relativamente ao metabolismo da glicose, sabe-se que este é regulado por um mecanismo fisiológico complexo dependente da interação de hormonas sob órgãos-alvo. A insulina²² é uma das hormonas que mais contribui para a homeostase da glicose e para que ocorra a diferenciação osteoblástica, a síntese de colagénio e a formação óssea.^{100,115,191} Note-se ainda o papel da OC na relação entre o metabolismo glicídico e o osso, dado que esta proteína medeia a secreção de insulina no pâncreas e é expressa em células da linhagem dos osteoblastos.^{60,102}

²² O recetor $\beta 2$ -adrenérgico (ADRB2) tem uma ação antagonizante à da insulina e inibe a produção de OC descarboxilada.

Em relação ao metabolismo lipídico sabe-se que os lipídios são importantes para o metabolismo esquelético e para uma boa saúde óssea.^{107,108,111} Eles relacionam-se também com o osso pois ambos partilham uma célula progenitora - as MSC. Estas encontram-se na medula óssea e diferenciam-se em, por exemplo, adipócitos, e o aumento dos adipócitos está associado a uma diminuição da DMO e de perda óssea na Osteoporose. É necessário ainda ter em conta que existe perda de massa óssea por causa dos lipídios inflamatórios e da sobrecarga oxidante, uma vez que estes inibem a diferenciação osteoblástica e aumentam a diferenciação osteoclástica.^{107,109}

Como vimos anteriormente, o osso é um órgão metabolicamente ativo e endócrino, dado que liberta substâncias na circulação que posteriormente vão atuar noutros metabolismos, como é o caso dos metabolismos lipídico e glicídico.³ Esta relação pode também ser comprovada através das correlações apresentadas no ponto 4.2, em que se verifica que os parâmetros de remodelação óssea encontram-se interligados com os parâmetros lipídicos e glicídicos, e que os indivíduos com massa óssea reduzida apresentam alterações nestes metabolismos, o que também confirma os dados que se encontram na literatura.

De um modo geral, percebemos que o parâmetro de remodelação óssea da fosfatase alcalina é o que se encontra mais relacionado com as alterações metabólicas.^{180,189} Isto acontece principalmente por três fatores. Primeiro a fosfatase alcalina é uma glicoproteína específica do osso e encontra-se na superfície dos osteoblastos, sendo também um mecanismo de compensação que interage com o osso. Em segundo lugar o osteoblasto é uma célula que responde à insulina, existindo uma diminuição da atividade osteoblástica e de massa óssea quando existe a intervenção do recetor β 2-adrenérgico (ADRB2), já que a noradrenalina é antagonizante da insulina. Finalmente, os lipídios inibem a diferenciação osteoblástica e a atividade da fosfatase alcalina.^{107,109,192,193}

Por outro lado, note-se que algumas destas correlações desaparecem quando o indivíduo já apresenta Osteoporose num estado mais avançado. Podemos visualizar isso comparando as correlações entre a população total e a população com massa óssea reduzida (Osteopenia ou Osteoporose).

Na primeira correlação percebemos que, de um modo geral, os parâmetros de remodelação óssea estão diretamente correlacionados com os parâmetros lipídicos (LDL e triglicéridos), com os glicídicos (glicemia, insulina e HOMA_{IR}), com a OC e com a Fosfatémia, e estão indiretamente correlacionados com os parâmetros lipídicos (HDL), com os glicídicos (insulina) e com Fosfatémia.

Na segunda correlação, percebemos que, com a diminuição da massa óssea, os parâmetros de remodelação óssea deixam de estar correlacionados com o metabolismo lipídico. Isto acontece porque, na relação direta, os parâmetros de remodelação óssea apenas se correlacionam com o metabolismo glicídico (glicemia, insulina, HOMA_{IR}), com a OC e com Fosfatémia, e na relação inversa porque a fosfatase alcalina relaciona-se com o HDL. Uma possível justificação para isto acontecer é o facto dos lipídios se irem alterando porque a doença modifica o seu metabolismo, deixando de haver um equilíbrio para passar a haver um estado inflamatório de doença.

Pode ainda verificar-se que o mesmo se sucede nas restantes correlações (pontos 4.2.2.1 a 4.2.2.3), já que, para a população controlo, dá-se conta que os parâmetros de remodelação óssea encontram-se correlacionados diretamente com ambos os parâmetros metabólicos, uma vez que a fosfatase alcalina e a fração óssea da fosfatase alcalina encontram-se relacionadas com a glicemia, HOMA_{IR}, colesterol_{Total} e LDL. Para a população controlo, é possível verificar-se que o marcador de formação óssea da PTH está indiretamente correlacionado com a fosfatémia. Quando analisamos a mesma correlação para a população com Osteopenia, percebemos que os parâmetros de remodelação óssea apenas se correlacionam diretamente com a glicemia, HOMA_{IR} e com a insulina, relacionando-se assim apenas com o metabolismo da glicose. Quando se analisa a correlação inversa/indireta para a população com Osteopenia, dá-se conta que os parâmetros de remodelação óssea encontram-se correlacionados com o metabolismo lipídico, dado que a Osteocalcina se correlaciona indiretamente com os triglicérides. Por fim, para a população com Osteoporose, os parâmetros de remodelação óssea relacionam-se

diretamente com o LDL, colesterol_{Total} (metabolismo lipídico), Fosfatemia e OC. Para a população com Osteoporose é também possível verificar-se que o marcador de formação óssea da PTH está indiretamente correlacionado com a fosfatemia.

5.3 Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea

Sabe-se que a HCys é um aminoácido que contém um grupo tiol, formado durante o metabolismo da metionina e que se encontra associado à Osteoporose, devido aos níveis elevados de homocisteína parecerem ser um fator de risco associado e independente das fraturas ósseas.^{163,194,195} No entanto, existem diversas enzimas que apresentam um papel importante no metabolismo da HCys, nomeadamente a 5,10 metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), que tem o papel de ajudar²³ a converter a HCys em metionina e que foi identificado como sendo um gene candidato para a Osteoporose.^{64,184}

Foi estudada a relação entre os polimorfismos genéticos e a DMO. Quando se efetuou esta análise para a classificação de DMO dividida por DMO normal, Osteopenia e Osteoporose não se obtiveram resultados, pelo que a distribuição dos polimorfismos genéticos, neste caso, não varia com a DMO, apesar de todos se encontrarem relacionados com o metabolismo da HCys. No entanto, quando se realizou a mesma análise para a divisão DMO normal vs Osteopenia ou Osteoporose (massa óssea reduzida), apenas a MTHFR mostrou ser significativa ($p=0,008$) para a suscetibilidade da Osteoporose. Neste caso, são os indivíduos que apresentam o genótipo CC ou CT (ou seja, os portadores do alelo C) que possuem um risco de 2,205 vezes de desenvolver Osteoporose e de terem DMO reduzida [2,205 IC 95% (1,231-3,948)]. Consequentemente, é a população com massa óssea reduzida que apresenta valores mais aumentados deste polimorfismo.

O polimorfismo C677T da MTHFR é o que se encontra relacionado com a redução da atividade da MTHFR e com o aumento secundário dos níveis de HCys.^{163,196} Isto acontece devido a uma alteração na posição 677, de uma citosina (C ou alanina) por uma timina (T – tipo valina). Sabe-se que a variante do alelo C (selvagem) tem uma atividade enzimática maior que a variante do alelo T, proporcionando um aumento ligeiro dos níveis de cisteína.¹⁹⁵ Por outro lado, os homozigóticos mutados (TT), apresentam níveis de HCys mais elevados do que os heterozigóticos (CT) e os homozigóticos sem mutação (CC), isto porque possuem uma atividade de MTHFR mais reduzida, impedindo que haja uma transferência de grupos metilo da 5-MTHFR para a HCys.^{97,158,197} Posto isto, o genótipo TT é o que se encontra relacionado com uma redução da DMO e com o aumento do risco de fraturas, já que mulheres com o genótipo TT apresentam menor DMO.⁶⁴ Assim, o genótipo TT pode ser um fator de risco para a Osteoporose nas mulheres em pós-menopausa, apesar de existirem resultados controversos/contraditórios, e portanto são ainda necessários mais estudos neste ponto.^{163,195}

Por exemplo, um estudo com meta-análise de 5.833 indivíduos avaliou a associação entre a DMO nas mulheres pós-menopausa e a MTHFR, em que se concluiu que o polimorfismo C677T do gene da MTHFR se encontrava associado à DMO do colo femoral e da coluna lombar, e que as mulheres com o genótipo TT eram as que possuíam menor DMO. Assim, desse estudo percebeu-se que o genótipo TT poderia ser um fator de risco para a Osteoporose nas mulheres em pós-menopausa.^{64,163,198} Por outro lado, um outro estudo com 346 mulheres em pós-menopausa, deu conta que o genótipo CT da MTHFR era o que se encontrava mais relacionado com a Osteopenia e com a Osteoporose, dado que estes grupos apresentavam valores superiores aos do grupo controlo, e tinham um risco de 6 e 3 vezes para a Osteopenia e Osteoporose, respetivamente.⁶⁴

²³ Ajuda porque o que converte a HCys é a metionina sintetase dependente da vitamina B12 e da tetra-hidrofolato (produto da MTHFR).

Assim, é de notar a falta de coerência nos resultados dos estudos realizados entre a DMO e C677T da MTHFR, dado que uns sugerem que o polimorfismo C677T se encontra associado com o risco de fratura osteoporótica e com DMO, enquanto outros não. Assim, chegou-se à conclusão que este polimorfismo da MTHFR não parece estar associado ao risco global para as fraturas osteoporóticas, mas apenas para as mulheres que se encontram na pós-menopausa.¹⁶³

No estudo realizado para este trabalho de dissertação, os resultados revelam que o alelo C é o que apresenta maior risco para a Osteoporose e o alelo T é que confere proteção. Estes resultados podem justificar-se pelo facto de o alelo C estar associado à formação de células (osteoblastos), contribuir para a não acumulação de HCys (favorecendo a formação de SAM e as reações de metilação no ADN), inibir as enzimas antioxidantes e a expressão genética, e ser o que apresenta maior atividade de metilação.⁶⁶ Assim, conclui-se que os resultados obtidos estão em concordância com os estudos prévios⁵⁴, dado que, como vimos anteriormente, o polimorfismo C677T da MTHFR pode ser um fator independente do desenvolvimento para a Osteoporose, apesar de haver incoerências sobre qual é o alelo que apresenta um maior risco para o desenvolvimento desta patologia. Assim, de um modo geral, são necessários ainda mais estudos com este polimorfismo para que se possa perceber melhor qual é o alelo que se encontra mais relacionado com a suscetibilidade para a Osteoporose.

5.4 Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos

Um polimorfismo existe quando as variações de ADN presentes numa população possuem uma frequência superior a 1%.¹²³ O polimorfismo é capaz de influenciar a expressão genética de um indivíduo através da diminuição ou aumento da quantidade da atividade de proteína que é codificada por esse gene. São estas alterações presentes no local de ação das enzimas de restrição que vão originar fragmentos de ADN de diversos tamanhos, como os SNPs. Sabe-se ainda que estes polimorfismos interagem com diversos metabolismos e que variam com a etnicidade e estilo de vida (alimentação, tabaco, álcool).^{123,124} É necessário também notar-se que as transições presentes nestes polimorfismos podem advir de mutações de recombinação de ADN, e podem passar de geração em geração, daí a que o seu estudo seja importante.¹²⁵ Por fim, as trocas mais comuns nos polimorfismos são as de transição de A>G e as de C>T.¹²⁵

Anteriormente demos conta que existe uma relação entre a DMO e os metabolismos lipídico e glicídico, o que também pode ser comprovado pela correlação realizada entre os parâmetros de remodelação óssea e estes metabolismos para a população total e para a classificação de DMO dividida. Porém, esta relação também pode ser demonstrada quando efetuamos uma relação entre os polimorfismos genéticos e os parâmetros antropométricos e metabólicos.

Quando analisamos a relação entre os polimorfismos genéticos estudados e os parâmetros antropométricos e metabólicos, verificamos que existe uma relação entre os diversos polimorfismos e os metabolismos lipídico, glicémico e o da remodelação óssea, pelo que estes influenciam indiretamente a suscetibilidade para a Osteoporose. Estes dados estão de acordo com os descritos na literatura, já que confirmam que os polimorfismos genéticos são suscetíveis de modificar/modular os metabolismos do nosso organismo. Assim, como eles modulam os parâmetros de remodelação óssea, acabam por afetar indiretamente o osso (através dos mecanismos de formação/reabsorção óssea) e por isso podem provocar um progresso mais ou menos grave da doença, consoante o estado fisiológico do indivíduo (se já tem ou não a doença).^{81,99,100,102,106,108}

5.4.1 Polimorfismo da C β S

Quando analisamos o polimorfismo da C β S com os parâmetros metabólicos e antropométricos, damos conta que este polimorfismo apenas se encontra relacionado com os parâmetros de remodelação óssea, sendo a fosfatase alcalina e a fração óssea da fosfatase alcalina os parâmetros predominantes. Assim, é de notar que:

- Para a população total, apenas a fosfatase alcalina ($p=0,031$) foi significativa;
- Para as populações com DMO normal, Osteopenia e para a conjugação Del/Del ou Ins/del vs Ins/Ins, não se obtiveram resultados significativos;
- Para as populações com Osteoporose e com massa óssea reduzida, e para as populações total com massa óssea reduzida agrupadas pelo genótipo Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins, foram significativos os parâmetros da fosfatase alcalina e os de fração óssea da fosfatase alcalina. Nestes casos, existe uma relação entre este polimorfismo e os parâmetros de remodelação óssea, em que o alelo Ins apresenta estes parâmetros aumentados;
- Para a conjugação Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins na população com Osteopenia, apenas a Fosfatemia foi significativa ($p=0,042$).

Daqui pode inferir-se que, quando se junta a população com Osteoporose com a população com Osteopenia (massa óssea reduzida), são os indivíduos portadores do alelo Ins que têm maior atividade e concentrações mais elevadas de fosfatase alcalina e de fração óssea da fosfatase alcalina. Isto sugere que estes indivíduos possuem uma maior facilidade compensatória de equilibrar/recompensar a perda de massa óssea. Neste caso, o progresso da doença poderá ser mais lento nos indivíduos portadores deste alelo, dado que existe uma maior formação óssea e reparação, pelo que quanto mais fosfatase alcalina houver, mais atividade compensatória existirá. Assim, os osteoblastos funcionam mais e melhor, prevenindo a Osteoporose nos indivíduos que não apresentam a doença, e melhorando o estado dos pacientes que já adquiriram esta doença, uma vez que a fosfatase alcalina ajuda na formação e mineralização óssea.¹⁸⁸

Estes resultados podem ainda significar que a fosfatase alcalina se encontra mais ativa na população com Osteoporose, e assim, através da melhor reparação óssea motivada pela fosfatase alcalina, os indivíduos doentes apresentam um melhor mecanismo de compensação óssea do que os indivíduos saudáveis. Por outro lado, como a maior parte dos indivíduos apresentam massa óssea reduzida, têm de produzir mais fosfatase alcalina para compensar a perda óssea.^{15,180,188}

Por fim, apesar de este polimorfismo não se relacionar diretamente com a DMO, estes relacionam-se indiretamente, através da relação dos parâmetros de remodelação óssea com este polimorfismo. Note-se ainda que, apesar de o alelo Ins ser predominante, o genótipo Ins/Ins é raro de se encontrar.⁷⁷

5.4.2 Polimorfismo do DHFR

Para a relação entre o polimorfismo da DHFR e os parâmetros metabólicos e antropométricos, percebeu-se que este polimorfismo se encontra relacionado com todos os metabolismos mencionados anteriormente – lipídico, glicídico e remodelação óssea. Assim, é de notar que:

- Para a população total, apenas o HOMA_{IR} foi significativo ($p=0,027$);
- Para as populações com Osteopenia e Osteoporose não existem resultados significativos;
- Para as populações com DMO normal, com massa óssea reduzida agrupada em Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/Del, com Osteoporose agrupada em Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del, foram significativos os parâmetros de LDL e de Colesterol_{Total}, havendo uma relação com o metabolismo lipídico;

- Para a população com massa óssea reduzida da classificação de DMO foram significativos os parâmetros da insulina ($p=0,041$) e do $HOMA_{IR}$ ($p=0,032$), havendo uma relação com o metabolismo da glicose;
- Para a população com DMO normal agrupada em Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del foram significativos os parâmetros de LDL ($p=0,018$), $Colesterol_{Total}$ ($p=0,015$), fosfatase alcalina ($p=0,043$) e de fração óssea da fosfatase alcalina ($p=0,045$). Neste caso, existe uma relação deste polimorfismo com os metabolismos lipídico e de remodelação óssea, em que os indivíduos com o alelo Del são os que apresentam um aumento destes parâmetros e por isso este alelo é o mais suscetível.

De uma maneira geral, podemos chegar à conclusão que para a população com massa óssea reduzida agrupada por Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/Del e para a população com Osteoporose agrupada por Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del, são os indivíduos portadores do alelo Ins que têm maior concentração de $Colesterol_{Total}$ e LDL. Isto deve-se ao facto destes parâmetros serem necessários para a proliferação celular e porque os lípidos se relacionam com o osso, sendo importantes para o metabolismo esquelético e para uma boa saúde óssea.¹⁰⁷

Relativamente à relação deste polimorfismo com o metabolismo glicídico, o alelo Del é predominante e por isso os indivíduos portadores deste alelo apresentam uma maior predisposição para a doença, já que têm valores mais elevados de insulina e $HOMA_{IR}$. Estes resultados são relevantes para o estudo da suscetibilidade para a Osteoporose pois a insulina é necessária para que ocorra a diferenciação osteoblástica e a formação óssea, encontrando-se assim em interação com o osso e com a formação deste.^{81,96}

No caso dos parâmetros da fosfatase alcalina e fração óssea da fosfatase alcalina, são os indivíduos com o alelo Del que possuem maior capacidade de compensar a perda de massa óssea, dado que quanto mais fosfatase alcalina houver, mais atividade compensatória haverá. Assim, como dito anteriormente, a fosfatase alcalina previne contra a Osteoporose nos indivíduos que não apresentam a doença e melhora o estado dos pacientes que já adquiriram esta doença.^{15,180,188}

Apesar de este polimorfismo não se relacionar diretamente com a DMO, estes relacionam-se indiretamente com a suscetibilidade com a Osteoporose, através da relação deste polimorfismo com os parâmetros de remodelação óssea e com os metabolismos glicídico e lipídico.

5.4.3 Polimorfismo da MTHFR

Como vimos anteriormente, o polimorfismo da MTHFR foi o único que se encontrou diretamente relacionado com a DMO. Todavia, este polimorfismo também se encontra relacionado com os metabolismos lipídico e de remodelação óssea. Assim é de notar que:

- Para a população total e para as populações com DMO normal, com Osteoporose e com massa óssea reduzida, não existem resultados significativos;
- Para a população com Osteopenia e essa mesma agrupada em CC vs CT ou TT, o único resultado significativo foi para a calcemia ($p=0,034$ e $p=0,022$ respetivamente);
- Para as populações total e com Osteoporose agrupadas em CC ou CT vs TT, os resultados maioritariamente significativos foram para o HDL ($p=0,042$ e $p=0,016$ respetivamente), relacionando-se com o metabolismo lipídico;
- Para a população total agrupada em CC vs CT ou TT existiram resultados significativos para a fosfatase alcalina ($p=0,048$) e para a fração óssea da fosfatase alcalina ($p=0,043$), relacionando-se com a formação/reabsorção óssea.

Destes resultados é possível afirmar-se que o genótipo TT é o que apresenta maior concentração de HDL, estando assim relacionado com o metabolismo lipídico. Isto acontece porque o HDL é uma lipoproteína de alta densidade com a função de transportar o colesterol para o fígado, que posteriormente vai ser metabolizado, e porque se pensa que os níveis de HDL estão associados com a vitamina D, pelo que a baixa quantidade de HDL aumenta o desenvolvimento de Osteoporose.¹¹¹ Para além destes fatores, o HDL pode exercer-se uma ação regulatória direta sobre os osteoblastos e osteoclastos, e os baixos níveis de leptina estão associados a um aumento de HDL e a uma diminuição da DMO, influenciando assim a suscetibilidade para a Osteoporose.^{181,182}

Para o caso da fosfatase alcalina e da fração óssea da fosfatase alcalina, é o genótipo CC que se encontra associado a um aumento da atividade destes elementos, dado que, como vimos previamente, é este alelo que apresenta maior atividade de metilação e que está associado à formação de células, como é o caso dos osteoblastos. Note-se que, como explicado antes, são os indivíduos portadores do genótipo CC que vão apresentar uma maior capacidade de compensar a perda de massa óssea, já que apresentam valores dos níveis da fosfatase alcalina e da fração óssea da fosfatase alcalina mais elevados.^{66,158,180,188}

Assim, este polimorfismo genético é o único que se encontra relacionado direta e indiretamente com a DMO e com a suscetibilidade para a Osteoporose, uma vez que também se encontra relacionado com os metabolismos lipídico e com o da remodelação óssea.

5.4.4 Polimorfismo da *GSTT1*

O polimorfismo da *GSTT1* apenas está relacionado com o metabolismo lipídico, e assim apenas na população com Osteoporose houve resultados significativos para o Colesterol_{Total} ($p=0,041$). Neste caso, é o genótipo não nulo que se encontra relacionado com o aumento deste elemento nos indivíduos com Osteoporose. Uma das possíveis razões para isto acontecer é o facto de o Colesterol_{Total} interagir com o metabolismo ósseo, isto porque, como vimos previamente, este metabolito faz parte de lipoproteínas, transportando as vitaminas lipossolúveis essenciais ao metabolismo ósseo. Para além disso, a formação de adipócitos é um fator importante para a Osteoporose, estando o seu aumento relacionado com uma menor formação osteoblástica e óssea, e com o aumento da perda óssea, pelo que o aumento dos adipócitos proporciona um aumento do risco para a Osteoporose.^{107,108,110,111}

Assim, apesar de este polimorfismo não se relacionar diretamente com a DMO, estes poderão relacionar-se indiretamente, através da relação deste polimorfismo com os parâmetros analisados anteriormente.

5.4.5 Polimorfismo da *GSTM1*

Para a relação entre o polimorfismo da *GSTM1* e os parâmetros metabólicos e antropométricos, percebeu-se que este polimorfismo está relacionado com os metabolismos lipídico, glicídico e de remodelação óssea. Isto é evidenciado nos resultados pois:

- Para a população total, com DMO normal e com Osteoporose, foram significativos os parâmetros de Fosfatemia e de fração óssea da fosfatase alcalina, encontrando-se este polimorfismo relacionado com o metabolismo da remodelação óssea;
- Para a população com Osteopenia, foram significativos os parâmetros de Triglicéridos ($p=0,037$) e de OC ($p=0,036$), relacionando-se este polimorfismo com o metabolismo lipídico e de remodelação óssea;

- Para a população com massa óssea reduzida, foram significativos os parâmetros de Insulina ($p=0,047$), $HOMA_I$ ($p=0,038$) e Fosfatemia ($p=0,036$), estando este polimorfismo relacionado com o metabolismo da glicose.

Neste caso, é a Fosfatemia que se encontra mais concordante com todos os dados, sendo os indivíduos portadores do genótipo nulo os que apresentam valores mais aumentados deste elemento. Isto parece ser concordante com outros estudos, dado que mostram a associação do aumento do fósforo sérico com a idade e com a Osteoporose, principalmente em mulheres na pós-menopausa.¹⁸⁶ Relativamente à fração óssea da fosfatase alcalina e à OC, estes parâmetros encontram-se também aumentados nos indivíduos com o genótipo nulo, sendo que o aumento da concentração de OC pode estar associado a uma compensação de formação óssea na Osteoporose, encontrando-se o seu valor geralmente aumentado.^{3,15,188}

No caso do metabolismo lipídico são os indivíduos portadores do genótipo nulo que apresentam valores superiores de triglicéridos, pelo que, como vimos antes, sabe-se que existe uma relação entre os lípidos e o osso, e que estes são importantes para o metabolismo esquelético e para uma boa saúde óssea.^{107,110,111}

Em relação ao metabolismo da glicose, são também os indivíduos com o genótipo nulo que apresentam valores superiores de ambos os resultados significativos, pelo que, como mostrado anteriormente, estes resultados são importantes para a suscetibilidade para a Osteoporose, dado que estes fatores são necessários para que ocorra a diferenciação osteoclástica e a formação óssea, interagindo com o osso e com a formação deste.^{81,102}

Neste caso, apesar de não existir uma relação direta entre este polimorfismo e a DMO, estes relacionam-se indiretamente com a suscetibilidade para a Osteoporose, através da relação deste polimorfismo com os parâmetros de remodelação óssea e com os metabolismos glicídico e lipídico.

5.4.6 Polimorfismo da *GSTP1*

Quando analisamos o polimorfismo da *GSTP1* percebemos que este também se encontra relacionado com o metabolismo lipídico e de remodelação óssea. Neste caso, é de salientar que:

- Para a população total e para a população com massa óssea reduzida não existem resultados significativos;
- Para a população com DMO normal existem resultados significativos para a Fosfatemia ($p=0,048$);
- Para a população com Osteopenia existem resultados significativos para a PTH ($p=0,044$), havendo assim uma relação deste polimorfismo com o metabolismo de remodelação óssea;
- Para a população com Osteopenia agrupada em AA ou AG vs GG, existem resultados significativos para a calcemia ($p=0,044$);
- Para as populações com Osteoporose e para as populações com DMO normal e com Osteoporose agrupadas em AA vs AG ou GG, existem resultados significativos para o LDL, apesar de também existir uma tendência para o Colesterol_{Total} e o $HOMA_{IR}$ serem significativos. Neste caso, há assim uma associação deste polimorfismo com o metabolismo lipídico.

Destes resultados pode inferir-se que são os indivíduos com o genótipo AA que possuem um LDL mais elevado, pelo que quanto maiores forem os valores deste elemento, mais resistente à doença o indivíduo vai ser. Por outro lado, estes indivíduos apresentam uma menor taxa de colesterol. Isto acontece porque, o colesterol de LDL tem maior capacidade de proliferação celular, dado que as células respondem melhor ao fator de crescimento. Sabe-se também que o LDL condiciona os níveis de

HOMA_{IR} e que, como vimos previamente, os lipídios interagem com o osso e são importantes para o metabolismo esquelético e para uma boa saúde óssea.^{107,108,111}

Relativamente à relação deste polimorfismo com o metabolismo de remodelação óssea, é possível verificar-se que são os indivíduos com o genótipo GG que apresentam um valor da PTH mais elevado. Isto vai ao encontro dos resultados presentes na literatura, dado que, como a PTH estimula a formação óssea, é normal que se encontre aumentada na Osteoporose.¹⁵ Para além da PTH, existem ainda resultados significativos para o cálcio, encontrando-se estes valores diminuídos nos indivíduos portadores do genótipo GG. Estes resultados são coerentes com a análise realizada, pois os indivíduos com Osteopénia apresentam menor formação óssea que os indivíduos com DMO normal, uma vez que este estado precede o estado de Osteoporose e por isso, estes indivíduos apresentam mais reabsorção do que formação óssea.^{58,71,72} Para além disto, é o genótipo GG aquele que apresenta um maior risco para a suscetibilidade para a Osteoporose, dado que são estes indivíduos que apresentam os parâmetros de remodelação óssea mais aumentados e os de cálcio mais diminuídos, logo possuem uma maior reabsorção do osso, produzindo mais PTH para compensar essa perda de massa óssea.

Por fim, apesar de o polimorfismo da GSTP1 não se relacionar diretamente com a DMO, estes relacionam-se indiretamente com a suscetibilidade para a Osteoprose, através da relação deste polimorfismo com os parâmetros de remodelação óssea e com o metabolismo lipídico, podendo estar relacionado com a suscetibilidade para a Osteoporose.

6 Conclusão e Perspetivas Futuras

6.1 Conclusão

A Osteoporose interage com diversos fatores a nível genético e ambiental, condicionando a vida do indivíduo e proporcionando o desenvolvimento da patologia. Sabe-se que estes fatores alteram a suscetibilidade para a doença, acabando por implicar problemas na saúde do indivíduo (aumento da mortalidade) e a nível social (perda de dependência, impacto económico, debilidade). Esta doença tem como principal característica uma redução da DMO e alterações na microarquitetura do osso, que levam a que ocorra uma diminuição significativa da massa óssea e a um aumento do risco de faturas.^{7,9,26,52}

Um dos fatores que se encontra ligado à Osteoporose é a idade (e no caso da população em estudo, o IMC), pelo que o aumento da esperança média de vida encontra-se associado com o aumento da prevalência desta patologia. No caso do indivíduo idoso (idade superior a 65 anos) pode provocar consequências, dado que aumentam as fraturas osteoporóticas (espontâneas e assintomáticas). Assim, o idoso acaba por ser aquele que se encontra em maior risco de contrair esta patologia, pelo que, na maior parte das vezes, encontra-se polimedicado com diversas co-morbilidades associadas, havendo a necessidade da existência de um cuidado médico rigoroso.^{7,9,52,55}

Relativamente aos métodos terapêuticos em vigor, pode concluir-se que estes são seguros, com poucas reações adversas e com um grande impacto positivo na prevenção das fraturas, apesar de apenas uma pequena percentagem de doentes de alto risco ser identificada e poucos com idade superior a 80 anos ser tratada. É ainda necessário notar que, apesar de os ensaios clínicos realizados demonstrarem a eficácia dos tratamentos, são necessários mais estudos, para que assim seja possível assegurar a segurança a longo prazo e a eficácia dos fármacos, tratando-se de uma forma de se encontrar o tratamento certo para esta patologia.⁵⁷

Abordando a fisiopatologia desta patologia, pode concluir-se que esta encontra-se interligada a uma desregulação dos mecanismos de remodelação óssea, quer por aumento de reabsorção óssea via osteoclastos, quer por uma diminuição da sua formação via osteoblastos, pelo que a resistência do osso depende tanto da DMO como da qualidade óssea.^{7,20,30} Estes fatores pioram com o avançar da idade e possuem um risco elevado no sexo feminino, acabando por se observar uma renovação óssea, com uma taxa de produção insuficiente por contrapartida com a elevada reabsorção que acontece. Assim, apesar de alguns dos mecanismos fisiológicos que participam na dinâmica de remodelação óssea e que são a base da explicação desta doença ainda não estarem totalmente percebidos, é importante salientar que múltiplos estudos têm demonstrado a relevância do metabolismo da HCys, lipídico e glicídico no desenvolvimento desta patologia e no risco de fraturas.⁵⁴

É relevante notar que o diagnóstico precoce²⁴ desta doença é raro, levando a que seja importante a implementação de medidas preventivas iniciadas durante o crescimento e desenvolvimento ósseo, com o propósito de evitar o desenvolvimento desta patologia. Existem fatores durante o desenvolvimento intrauterino que podem interferir no risco de o indivíduo mais tarde vir a ter Osteoporose. Assim, o impacto é minimizado quando o osso é maximizado e a massa óssea otimizada, já que ocorre uma desmineralização natural com o avançar da idade. Portanto, existe a necessidade de as barreiras contra o diagnóstico por DMO serem evitadas, havendo, uma oportunidade de detetar precocemente os indivíduos de alto risco, de forma a adequar uma proposta terapêutica a cada um e impedir o desenrolar das consequências clínicas que possam advir.^{7,8}

Existem, portanto, novas metodologias que vão surgindo ao longo do tempo, tanto para o diagnóstico como para a identificação de indivíduos em risco, como são exemplos as ferramentas de cálculo do risco de fratura e as descobertas nas vias de sinalização, tais como o reconhecimento do papel dos osteócitos

²⁴ O nível sérico de osteopontina é o maior componente da matriz óssea, encontrando-se presente nos osteoblastos e osteoclastos, sendo promissor no diagnóstico precoce.

no começo/regulação do processo de remodelação/identificação de elementos moleculares, que proporcionam novas terapêuticas (esclerostina, a conexina, podoplanina e Odanacatib).⁷

Pode concluir-se que os ensaios clínicos para o género masculino são mais difíceis de realizar, assim como a avaliação da eficácia dos fármacos, por causa da incidência das fraturas ser inferior e de o início da reabsorção óssea acentuada não estar bem definido. Isto leva a que os resultados/estudos descritos sobre esta patologias se refiram maioritariamente aos indivíduos do sexo feminino, já que as normas clínicas relativas ao tratamento de Osteoporose nos homens são escassas. Daqui é possível concluir-se ainda que também os idosos são um grupo pouco representado nestes ensaios clínicos, o que leva à necessidade de uma pesquisa/terapêuticas mais abrangentes.^{27,29}

Relativamente à análise realizada ao longo deste estudo, pode concluir-se que, esta teve como principal objetivo a caracterização das frequências de quatro polimorfismos genéticos (CBS, DHFR, MTHFR, GST) nas populações com Osteoporose, Osteopenia e DMO normal, com posterior determinação da relevância destes polimorfismos na suscetibilidade para a Osteoporose.

Inicialmente, verificou-se que tanto a idade como o IMC estão relacionados com a suscetibilidade para a Osteoporose, sendo ambos considerados como um fator de risco para esta patologia. Isto acontece porque, como vimos anteriormente, esta patologia ocorre com o avançar da idade, sendo a população mais envelhecida, aquela que apresenta uma maior predisposição para esta doença. No caso do IMC, este é considerado como sendo um fator de risco quando os indivíduos apresentam um IMC baixo, dado que o baixo peso do indivíduo está associado a um maior risco de fraturas, visto que estes apresentam um menor pico de massa óssea. No entanto, o IMC alto pode ser considerado como um fator protetor contra esta doença, já que os indivíduos com Obesidade apresentam uma maior DMO e um maior reforço ósseo, uma vez que o esqueleto tem de formar osso mais resistente para suportar o peso do indivíduo.

É ainda possível concluir-se que a Fosfatase alcalina é um marcador de formação óssea muito importante e eficaz, uma vez que, este marcador encontra-se em relação/correlação com todos os parâmetros metabólicos analisados, demonstrando-se assim que existe uma relação entre o metabolismo ósseo e os parâmetros estudados. É de salientar ainda que, os valores deste marcador estão aumentados nas populações com DMO reduzida, confirmando e demonstrando que o aumento da Fosfatase alcalina nestas populações, deriva de um mecanismo compensatório por causa da perda de massa óssea com o avançar da idade e da doença. Assim, pode concluir-se que, a Osteoporose é uma doença que se encontra em constante relação/correlação com os processos metabólicos (metabolismo lipídico e glicídico) e com o sistema endócrino, apoiando/confirmando a hipótese, de que o osso é um órgão endócrino e que se encontra em constante renovação, sendo estas funções muito importantes para que haja uma homeostase entre os diversos metabolismos do corpo humano.

Pode ainda concluir-se que, para a análise entre a interação entre os polimorfismos genéticos e a DMO dividida pelos três grupos, nenhum polimorfismo genético foi considerado como sendo estatisticamente significativo. No entanto, quando se juntou os indivíduos com Osteopenia ou Osteoporose, apenas o polimorfismo genético da MTHFR foi considerado como sendo estatisticamente significativo, com um risco de 2,205 vezes superior para o desenvolvimento desta patologia, pelo que este polimorfismo foi o único que influenciou diretamente a DMO. Neste caso, são os indivíduos portadores dos genótipos CC ou CT (alelo C), aqueles que apresentam um maior risco para esta patologia, dado que se pensa que isto acontece porque, o alelo C encontra-se associado à formação de células (nomeadamente osteoblastos) e à não acumulação de HCys.

Por fim, pode concluir-se que apesar de os polimorfismos genéticos não influenciarem diretamente a DMO, quando divididos pelos três grupos de DMO, que estes podem influenciar indiretamente a suscetibilidade para esta doença. Isto deve-se ao facto de os polimorfismos genéticos estarem em relação com os parâmetros metabólicos e antropométricos analisados, dado que existe uma relação entre todos os polimorfismos genéticos estudados e os metabolismos lipídicos, glicídico e de remodelação óssea

(apesar de alguns só se encontrarem relacionados apenas com um dos metabolismos). Assim, pode-se concluir que estes polimorfismos interferem indiretamente com a suscetibilidade para a Osteoporose, porque os polimorfismos genéticos podem modificar os metabolismos com que interagem, sendo que ao modificarem os parâmetros de remodelação óssea estão também a alterar indiretamente o osso (aumento da reabsorção ou diminuição da formação), levando a que haja um progresso mais ou menos grave da doença consoante o estado fisiológico do indivíduo (se já apresenta ou não esta doença).

6.2 Perspetivas Futuras

O impacto da Osteoporose a nível individual e social/económico (custos financeiros nos serviços de saúde) é inquestionável, pelo que é importante a existência de barreiras para impedir uma ascensão das elevadas taxas tanto de mortalidade como de morbilidade. Isto é necessário para que se consiga atingir um envelhecimento saudável, com baixo impacto na qualidade de vida do idoso (como é o caso das fraturas).

Ao longo desta dissertação, foram-se dando conta de algumas perspetivas futuras. No entanto, para além dessas, são necessários mais trabalhos sobre este tema, com vista ao surgimento de novas técnicas de diagnóstico/tratamentos e o surgimento de novas medidas de prevenção, para que assim haja um melhoramento da qualidade de vida dos doentes (principalmente do doente idoso). São também importantes mais estudos com estes polimorfismos, dado que estes podem evidenciar indiretamente grupos de suscetibilidade para esta doença e para que se possa entender melhor como é que alguns grupos estão relacionados com os diversos metabolismos (principalmente o lipídico, glicídico e o de remodelação óssea). Para além disso, são indispensáveis mais estudos tendo por base a análise destes e de outros polimorfismos genéticos (por exemplo, a sintetase do óxido nítrico – NOS), para que assim se possa perceber se estes polimorfismos podem ou não ajudar no diagnóstico precoce da doença e a descobrir novos meios de tratamento (é necessário ter em conta o tamanho/localização da população, assim como a etnia, idade e género). Isto porque, estamos numa era cada vez mais tecnológica e por isso temos mais conhecimentos e meios para descobrir novas formas de prevenção/diagnóstico e cura para determinadas patologias.

É importante também salientar a necessidade de mais estudos que relacionem esta patologia com os parâmetros metabólicos, dado que existem dúvidas/resultados controversos sobre a maneira de como por exemplo o IMC, a Obesidade, a Diabetes e o Colesterol influenciam a suscetibilidade para esta doença. Assim, a realização desse estudo é importante para que se possa perceber como é que os diversos metabolismos influenciam a saúde óssea e de que maneira podem ajudar na deteção precoce da Osteoporose.

Para além disso, apesar de as referências bibliográficas serem muitas para os polimorfismos analisados, percebemos que quando se relacionam com a Osteoporose, estes são escassos, pelo que são necessários mais estudos que relacionem a Osteoporose com estes polimorfismos. Além disso, são também necessários mais estudos que abranjam a população masculina (dado que futuramente, serão estes aqueles que irão apresentar uma maior predisposição para esta doença) e a população idosa, já que a maior parte dos estudos encontrando analisam apenas o género feminino, principalmente no estado da pós-menopausa.

Um dos principais pontos a destacar deste estudo foi o da existência de uma relação entre o marcador de formação óssea da Fosfatase Alcalina com as alterações metabólicas nos metabolismos lipídico e glicídico. Assim, são necessários mais estudos para se perceber se estes resultados são frequentes/repetíveis, como é que esta relação ocorre, quais as causas e benefícios, como se pode melhorar a qualidade de vida dos doentes e desenvolver-se novos biomarcadores para a deteção antecipada da Osteoporose.

7 Referências Bibliográficas

1. Seeman E. Bone quality: the material and structural basis of bone strength. *J Bone Miner Metab.* 2008;26(1):1-8.
2. Abimanyi-Ochom J, Watts JJ, Borgström F, et al. Changes in quality of life associated with fragility fractures: Australian arm of the International Cost and Utility Related to Osteoporotic Fractures Study (AusICUROS). *Osteoporos Int.* 2015;26(6):1781-1790. doi:10.1007/s00198-015-3088-z.
3. Barros J. O Osso como órgão endócrino, dissertação para a obtenção do grau de mestre em Medicina, Porto. 2011.
4. Judas F, Palma P, Falacho R, et al. Estrutura e Dinâmica Do Tecido Ósseo. *Univ Coimbra.* 2012;1-51.
5. Baccaro LF, Conde DM, Costa-Paiva L, et al. The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: A viewpoint from Brazil. *Clin Interv Aging.* 2015;10(n.d):583-591. doi:10.2147/CIA.S54614.
6. Educação M. Sistema esquelético. OMS. <https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/biologia/sistema-esqueletico.htm>. Published 2018. Accessed May 5, 2018.
7. Rodrigues AM, Canhão H, Marques A, et al. Portuguese recommendations for the prevention, diagnosis and management of primary osteoporosis - 2018 update. *Acta Reumatol Port.* 2018;2018(43):10-31.
8. Lin H-H, Huang C-Y, Hwang L-C. Association between metabolic syndrome and osteoporosis in Taiwanese middle-aged and elderly participants. *Arch Osteoporos.* 2018;13(48):1-7.
9. Tu KN, Lie JD, King C, et al. Osteoporosis: A Review of Treatment Options. 2018;43(2):92-104.
10. Radmin F. Leukemia: Improving efficiency of bone marrow transplants. Foundation for Biomedical Research. <https://fbresearch.org/leukemia-improving-efficiency-of-bone-marrow-transplants/>. Published 2013. Accessed May 6, 2018.
11. Venegas KR, Gómez MA, Garre MC, et al. Pharmacogenetics of Osteoporosis: Towards Novel Theranostics for Personalized Medicine? *Omi A J Integr Biol.* 2012;16(12):638-651. doi:10.1089/omi.2011.0150.
12. Martínez-Reina J, García-Aznar J, Domínguez J, et al. A bone remodelling model including the directional activity of BMUs. *Biomech Model Mechanobiol.* 2009;8(2):111-127.
13. Bandeira F, Costa AG, Soares Filho MA, et al. Bone markers and osteoporosis therapy. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(5):504-513. doi:10.1590/0004-2730000003384.
14. Jafari A, Qanie D, Andersen TL, et al. Legumain Regulates Differentiation Fate of Human Bone Marrow Stromal Cells and Is Altered in Postmenopausal Osteoporosis. *Stem Cell Reports.* 2017;8(2):373-386. doi:10.1016/j.stemcr.2017.01.003.
15. Saraiva GL, Lazaretti-Castro M. Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2002;46(1):72-78. doi:10.1590/S0004-27302002000100010.
16. Brent Richards J, Zheng HF, Spector TD. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: Advances and challenges. *Nat Rev Genet.* 2012;13(8):576-588. doi:10.1038/nrg3228.
17. Ralston SH. Genetics of osteoporosis. *Ann New York Acad of Sci.* 2010; 1192(1):181-189. doi:10.1210/edrv.23.3.0464.
18. Reumatologista. Osteoporose. Consulte o Reumatologista. <http://consulteoreumatologista.blogspot.com/p/osteoporose.html>. Accessed June 1, 2018.
19. Ramos S dos P. Osteoporose. Gineco.com.br. <https://www.gineco.com.br/saude-feminina/doencas-femininas/osteoporose/>. Published 2017. Accessed May 6, 2018.

20. Talwar SA, Griffing GT. Bone Markers in Osteoporosis. *Medscape*. 2017;n.d:1-12.
21. IOF. International Osteoporosis Foundation. IOF. <https://www.iofbonehealth.org/>. Published 2017. Accessed June 1, 2018.
22. Rodrigues E. Cirurgia do Quadril. Dr.Felipe de Paiva Carvalho. <http://felipedepaiva.com.br/fraturas-do-quadril/>. Published 2015. Accessed May 6, 2018.
23. International Osteoporosis Foundation. Osteoporosis and you: What is osteoporosis? *Int Osteoporos Found*. 2018;n.a:1-16.
24. Zhu H, Jiang J, Wang Q, et al. Associations between ER α / β gene polymorphisms and osteoporosis susceptibility and bone mineral density in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord*. 2018;18(11):1-16. doi:10.1186/s12902-018-0230-x.
25. Diez-Perez A, Naylor KE, Abrahamsen B, et al. International Osteoporosis Foundation and European Calcified Tissue Society Working Group. Recommendations for the screening of adherence to oral bisphosphonates. *Osteoporos Int*. 2017;28(3):767-774. doi:10.1007/s00198-017-3906-6.
26. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, et al. Osteoporosis in the European Union: Medical management, epidemiology and economic burden. *Arch Osteoporos*. 2013;8(1-2):1-115. doi:10.1007/s11657-013-0136-1.
27. Coussirat C, Batista C, Schneider RH, et al. Vitaminas B12, B6, B9 e homocisteína e sua relação com a massa óssea em idosos. *Rev Bras Geriatr e Gerontol*. 2012;15(3):577-585. doi:10.1590/S1809-98232012000300018.
28. Johansson H, Odén A, Kanis JA, et al. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture. *Calcif Tissue Int*. 2014;94(5):560-567. doi:10.1007/s00223-014-9842-y.
29. Boudin E, Fijalkowski I, Hendrickx G, et al. Genetic control of bone mass. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;432(n.d):3-13. doi:10.1016/j.mce.2015.12.021.
30. Radominski SC, Bernardo W, Paula AP de, et al. Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Reumatol*. 2017;57(2):452- 466. doi:10.1016/j.rbr.2017.06.001.
31. Loures MAR, Zerbini CAF, Danowski JS, et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da osteoporose em homens. *Rev Bras Reumatol*. 2017;57(2):497-514. doi:10.1016/j.rbr.2017.06.002.
32. Caires ELP, Bezerra MC, Junqueira AFT de A, et al. Tratamento da osteoporose pós-menopáusia: um algoritmo baseado na literatura para uso no sistema público de saúde. *Rev Bras Reumatol*. 2017;57(3):254-263. doi:10.1016/j.rbr.2016.12.001.
33. Ramalho AC, Lazaretti-Castro M. Fisiopatologia da osteoporose involutiva TT - Physiopathology of involutive osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 1999;43(6):409-414. doi:10.1590/S0004-27301999000600004.
34. Cavalier E, Bergmann P, Bruyère O, et al. The role of biochemical of bone turnover markers in osteoporosis and metabolic bone disease: a consensus paper of the Belgian Bone Club. *Osteoporos Int*. 2016;27(7):2181-2195. doi:10.1007/s00198-016-3561-3.
35. Zazula Fabiana C, Pereira MA dos S. Fisiopatologia da Osteoporose e o exercício físico como medida preventiva. *Arq Ciênc Saúde Unipar*. 2003;7(3):269-275. doi:10.25110/ARQSAUDE.V7I3.2003.1093.
36. Zhang L, Yin X, Wang J, et al. Associations between VDR Gene Polymorphisms and Osteoporosis Risk and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women: A systematic review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2018;8(891):1-16. doi:10.1038/s41598-017-18670-7.

37. Burke TN, França FJR, Meneses SRF de, et al. Postural control among elderly women with and without osteoporosis: is there a difference? *Sao Paulo Med J.* 2010;128(4):219-224. doi:10.1590/S1516-31802010000400009.
38. Lúcio MA do M. Efeito da Osteoporose e da Osteoartrose nas Propriedades mecânicas e Estruturais do osso trabecular, dissertação para a obtenção do grau de mestre Engenharia Biomédica. Lisboa. 2008.
39. Li WF, Hou SX, Yu B, et al. Genetics of osteoporosis: Perspectives for personalized medicine. *Per Med.* 2010;7(6):655-668. doi:10.2217/pme.10.55.
40. Kanis JA, Hans D, Cooper C, et al. Interpretation and use of FRAX in clinical practice. *Osteoporos Int.* 2011;22(9):2395-2411. doi:10.1007/s00198-011-1713-z.
41. Silva ACV, da Rosa MI, Fernandes B, et al. Fatores associados à osteopenia e osteoporose em mulheres submetidas à densitometria óssea. *Rev Bras Reumatol.* 2015;55(3):223-228. doi:10.1016/j.rbr.2014.08.012.
42. Kanis JA, McCloskey E V, Johansson H, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2013;24(1):23-57. doi:10.1007/s00198-012-2074-y.
43. Salmaso FV, Vigário P dos S, Mendonça LMC de, et al. Análise de idosos ambulatoriais quanto ao estado nutricional, sarcopenia, função renal e densidade óssea. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(3):226-231. doi:10.1590/0004-2730000002580.
44. Morris HA, Eastell R, Jorgensen NR, et al. Clinical usefulness of bone turnover marker concentrations in osteoporosis. *Clin Chim Acta.* 2017;467(n.d):34-41. doi:10.1016/j.cca.2016.06.036.
45. Andrade C, Santos G. *Programa Nacional Para a Promoção Da Alimentação Saudável.* 2017, n.a.:1-20. https://www.alimentacaosaudavel.dgs.pt/activeapp/wp-content/files_mf/1507564169PNPAS_DGS2017.pdf.
46. Marques A, Rodrigues AM, Romeu JC, et al. Recomendações multidisciplinares portuguesas sobre o pedido de DXA e indicação de tratamento de prevenção das fraturas de fragilidade. *Rev Port Med Geral e Fam.* 2016;32(n.d):425-441.
47. Szulc P, Bouxsein M. Overview of osteoporosis: Epidemiology and clinical management. *Int Osteoporos Found.* 2011:1-65.
48. Guglielmi G, Muscarella S, Leone A, et al. Imaging of Metabolic Bone Diseases. *Radiol Clin North Am.* 2008;46(4):735-754. doi:10.1016/j.rcl.2008.04.010.
49. Kanis JA, Johansson H, Oden A, et al. Worldwide uptake of FRAX. *Arch Osteoporos.* 2014;9(1):1-10. doi:10.1007/s11657-013-0166-8.
50. Kanis JA, Harvey N, Cooper C, et al. A systematic review of intervention thresholds based on FRAX: A report prepared for the National Osteoporosis Guideline Group and the International Osteoporosis Foundation. *Arch Osteoporos.* 2016;11(1):1-48. doi:10.1007/s11657-016-0278-z.
51. Reginster JY, Neuprez A, Lecart MP, et al. Osteoporosis and personalized medicine. *Rev Med Liege.* 2015;70(5-6):321-324.
52. Kanis JA, Adachi JD, Cooper C, et al. Standardising the descriptive epidemiology of osteoporosis: Recommendations from the Epidemiology and Quality of Life Working Group of IOF. *Osteoporos Int.* 2013;24(11):2763-2764. doi:10.1007/s00198-013-2413-7.
53. Gauthier A, Kanis JA, Martin M, et al. Development and validation of a disease model for postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2011;22(3):771-780. doi:10.1007/s00198-010-1358-3.
54. Saúde M da. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Da Osteoporose. *Rev. Bras. Ortop.* 2014;224(3):1-22. doi:10.1007/s00198-014-2794-2.

55. OMS. Organização Mundial da Saúde. OMS. <http://www.who.int/eportuguese/countries/prt/pt/>. Published 2018. Accessed June 20, 2018.
56. Said HM. Intestinal Absorption of water-soluble vitamins in health and disease. *Biochem J*. 2011;437(3):357-372. Doi:10.1042/BJ20110326.
57. Cooper C, Dawson-Hughes B, Gordon CM, et al. Nutrição saudável, ossos saudáveis: Como os fatores nutricionais afetam a saúde músculo-esquelética ao longo da vida. *International Osteoporosis Foundation*. 2015:1-36.
58. Bellan M, Pirisia M, Sainaghia PP. Osteoporose na artrite reumatoide: papel do sistema vitamina D/hormônio paratireóideo. *Ver Bras Reumatol*. 2015;55(3):256-263.
59. Wu J, Shang D-P, Yang S, et al. Association between the vitamin D receptor gene polymorphism and osteoporosis. *Biomed Reports*. 2016;5(2):233-236. Doi:10.3892/br.2016.697.
60. O'Connor EM, Durack E. Osteocalcin: The extra-skeletal role of a vitamin K-dependent protein in glucose metabolism. *J Nutr Intermed Metab*. 2017;7(n.d):8-13. doi:10.1016/j.jnim.2017.01.001.
61. Oldknow KJ, MacRae VE, Farquharson C. Endocrine role of bone: Recent and emerging perspectives beyond osteocalcin. *J Endocrinol*. 2015;225(n.d):1-19. doi:10.1530/JOE-14-0584.
62. Gonda TA, Kim Y, Salas MC, et al. Folic Acid Increases Global DNA Methylation and Reduces Inflammation to Prevent Helicobacter-Associated Gastric Cancer in Mice. *Gastroenterology*. 2012;142(n.d):824-833.
63. Giusti K. Associação entre polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo de folato (RFC1, GCP2, MTHFR e MTHFD1) e alterações nas concentrações de folato, cobalamina e homocisteína em mulheres com história de abortos espontâneos recorrentes, dissertação para a obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas, São Paulo. 2012.
64. Tongboonchoo C, Tungtrongchitr A, Phonrat B, et al. Association of MTHFR C677T polymorphism with bone mineral density of osteoporosis in postmenopausal Thai women. *J Med Assoc Thail*. 2013;96(2):133-139.
65. Thakur S, Thakur SD, Wani NA, et al. Reduced expression of folate transporters in kidney of a rat model of folate over supplementation. *Genes Nutr*. 2014;9(369):1-12.
66. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene*. 2014;533(1):11-20.
67. Biselli PM, Guerzoni AR, Godoy MF de, et al. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and concentrations of methylmalonic acid and folate on plasma homocysteine and risk of coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2010;29(1):32-40.
68. Cao Y, Zhang Z, Zheng Y, et al. The association of idiopathic recurrent early pregnancy loss with polymorphisms in folic acid metabolism-related genes. *Genes Nutr*. 2014;9(402):1-8.
69. Premaor MO, Brondani JE. Nutrition and bone health: the importance of calcium, phosphorus, magnesium and protein. *Rev da AMRIGS*. 2016;60(3):253-263.
70. Campos M, Leal M, Cartaxeiro S. Equilíbrio Cálcio-Fósforo. *Assoc Port Insufic Renais*. 2016;n.d:1-3.
71. Russo LAT, Gregório LH de, Lacativa PGS, et al. Concentration of 25-hydroxyvitamin D in postmenopausal women with low bone mineral density. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;53(9):1079-1087. doi:10.1590/S0004-27302009000900004.
72. Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra R. Medicamentos para o tratamento da osteoporose: revisão. *Rev Bras Reumatol*. 2011;51(4):365-382.
73. Viera M de S. Bioquímica do Fósforo. In: *Programa de Pós-Graduação Em Ciências Veterinárias Da Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul*. Brasil; 2010:1-9.
74. Yi F, Li P-L. Mechanisms of Homocysteine-Induced Glomerular Injury and Sclerosis. *Am J Nephrol*. 2008;28(n.d):254-265.

75. Finkelstein J. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr.* 1998;157(Suppl 2):S40-S44.
76. Brosnan JT, Jacobs RL, Stead LM, et al. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. *Acta Biochim Pol.* 2004;51(2):405-413.
77. Yakub M, Moti N, Parveen S, et al. Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS Genes and Homocysteine Levels in a Pakistani Population. *PLoS One.* 2012;7(n.d):1-7.
78. Varga EA, Sturm AC, Misita CP, et al. Homocysteine and MTHFR Mutations Relation to Thrombosis and Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2005;111(n.d):289-293.
79. Ayala C, García R, Cruz E, et al. Homocysteine levels and polymorphisms of MTHFR and CBS genes in Colombian patients with superficial and deep venous thrombosis. *Biomedica.* 2010;30(2):259-267.
80. Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. Metabolism of homocysteine, its relation to the other cellular thiols and its mechanism of cell damage in a cell culture line (human histiocytic cell line U-937). *Biochim Biophys Acta.* 1995;269(n.d):6-12.
81. Kanazawa I. Interaction between bone and glucose metabolism. *Endocr J.* 2017;64(1):1-10. doi:10.1507/endocrj.EJ17-0323.
82. Aléssio ACM, Siqueira LH, Bydlowski SP, et al. Polymorphisms in the CBS gene and homocysteine, folate and vitamin B12 levels: association with polymorphisms in the MTHFR and MTRR genes in Brazilian children. *Am J Med Genet.* 2008;146(20):2598-2602.
83. Guldener C V an, Nanayakkara PWB, Stehouwer CDA. Homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA): biochemically linked but differently related to vascular disease in chronic kidney disease. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(n.d):1683-1687.
84. Marinho C, Alho I, Arduíno D, et al. GST M1/T1 and MTHFR polymorphisms as risk factors for hypertension. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;353(n.d):344-350.
85. Franchis R, Fermo I, Mazzola G, et al. Contribution of the Cystathionine - Synthase Gene (844ins68) Polymorphism to the Risk of Early-onset Venous and Arterial Occlusive Disease and of Fasting Hyperhomocysteinemia. *J Thromb Haemost.* 2000;84(n.d):576-582.
86. Silberberg J, Crooks R, Fryer J, et al. Gender differences and other determinants of the rise in plasma homocysteine after l-methionine loading. *Atherosclerosis.* 1997;133(n.d):105-110.
87. Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet.* 2008;49(3):267-282.
88. Raimundo M, Freitas G De, Orsini M, et al. Metabolismo da homocisteína em doenças neurológicas. *Rev Bras Neurol.* 2015;51(3):73-78.
89. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(1):75- 81.
90. Moura KF, Haidar M, Bonduki C, et al. Frequencies of interleukin-6, GST and progesterone receptor gene polymorphisms in postmenopausal women with low bone mineral density. *Sao Paulo Med J.* 2014;132(1):36-40. doi:10.1590/1516-3180.2014.1321566.
91. Phuthong S, Settheetham-ishida W, Natphopsuk S, et al. Genetic Polymorphism of the Glutathione S-transferase Pi 1 (GSTP1) and Susceptibility to Cervical Cancer in Human Papilloma Virus Infected Northeastern Thai Women. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2018;19(2):381-385. doi:10.22034/APJCP.2018.19.2.381.
92. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey R. Glutathione Transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45(n.d):51-88.
93. Ueland PM, Hustad S, Schneede J, et al. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci.* 2001;22(4):195-201.

94. Cardoso IL. Homocisteína E a Doença Cardiovascular. *Rev da Fac Ciências da Saúde*. 2009;6(n.d):198-206.
95. Yap S. Homocystinuria due to cystathionine B synthase deficiency. *Ann Intern Med*. 2005;6(n.d):1-13. doi:10.4103/0378-6323.42916.
96. Kanazawa I. Osteocalcin Possesses Hormonal Function Linking Bone to Glucose Metabolism. *J Diabetes Metab*. 2011;2(4):2-4. doi:10.4172/2155-6156.1000105e.
97. Zhang D, Zhou Y, Han L, et al. The effect of MTHFR C677T polymorphism on type 2 diabetes mellitus with vascular complications in Chinese Han population: a meta-analysis. *Endocr J*. 2014;61(7):717-726.
98. Fernandes TAP, Gonçalves LML, Brito JAA. Relationships between Bone Turnover and Energy Metabolism. *J Diabetes Res*. 2017; n.d:1-12. doi:10.1155/2017/9021314.
99. Faienza MF, Luce V, Ventura A, et al. Skeleton and glucose metabolism: A bone-pancreas loop. *Int J Endocrinol*. 2015;n.d:1-7. doi:10.1155/2015/758148.
100. Wei J, Ferron M, Clarke CJ, et al. Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation. *J Clin Invest*. 2014;124(4):1-13. doi:10.1172/JCI72323.
101. Yano S, Nabika T, Nagai A, et al. Interrelationship between glucose metabolism and undercarboxylated osteocalcin: A cross-sectional study in a community-dwelling population. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2015;24(3):489-495. doi:10.6133/apjcn.2015.24.4.02.
102. Karner CM, Long F. Glucose metabolism in bone. *Bone*. 2017;17(n.d):1-27. doi:10.1016/j.bone.2017.08.008.
103. Wei J, Karsenty G. An Overview of the Metabolic Functions of Osteocalcin. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;13(3):180-185. doi:10.1007/s11914-015-0267-y.
104. Aveline P, Rochefort GY. Osteocalcin: A link between bone, energy metabolism and disease. *n.d*. 2015;n.d:1-9.
105. Razny U, Fedak D, Kiec-Wilk B, et al. Carboxylated and undercarboxylated osteocalcin in metabolic complications of human obesity and prediabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2017;33(3):1-11. doi:10.1002/dmrr.2862.
106. Raska IJ, Raskova M, Zikan V, et al. Body composition is associated with bone and glucose metabolism in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2017;66(n.d):99-111.
107. Tintut Y, Demer LL. Effects of bioactive lipids and lipoproteins on bone. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(2):1-16. doi:10.1088/1367-2630/15/1/015008.Fluid.
108. Tian L, Yu X. Lipid metabolism disorders and bone dysfunction-interrelated and mutually regulated. *Mol Med Rep*. 2015;12(1):783-794. doi:10.3892/mmr.2015.3472.
109. Yezerska I, Hernandez Hernandez J, Olmos Martinez J, et al. Dyslipidemia and bone metabolism . A common bond of the osteoporosis and the atherosclerosis? *Rev Osteoporos y Metab Miner*. 2011;3(1):41-50.
110. Saghafi H, Rahmani M, Larijani B. Relationship between Lipid Profile and Bone Turnover in Pre and Postmenopausal Women. *Iran J Public Health*. 2008;1(19):23-29.
111. Poiana C, Radoi V, Carsote M, et al. New Clues that May Link Osteoporosis to the Circulating Lipid Profile. *Bone Res*. 2013;3(n.d):260-266. doi:10.4248/BR201303004.
112. Li S, Jiang H, Du N. Association between osteoprotegerin gene T950C polymorphism and osteoporosis risk in the Chinese population: Evidence via meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(12):1-7. doi:10.1371/journal.pone.0189825.
113. Moreira CA, Barreto FC, Dempster DW. New insights on diabetes and bone metabolism. *J Bras Nefrol*. 2015;37(4):490-495. doi:10.5935/0101-2800.20150077.

114. Cutrim DMSL, Pereira FA, de Paula FJA, et al. Lack of relationship between glycemic control and bone mineral density in type 2 diabetes mellitus. *Brazilian J Med Biol Res.* 2007;40(2):221-227. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17273658>.
115. Ghodsi M, Larijani B, Keshtkar AA, et al. Mechanisms involved in altered bone metabolism in diabetes: A narrative review. *J Diabetes Metab Disord.* 2016;15(52):1-9. doi:10.1186/s40200-016-0275-1.
116. Borgström F, Lekander I, Ivergård M, et al. The International Costs and Utilities Related to Osteoporotic Fractures Study (ICUROS) - Quality of life during the first 4 months after fracture. *Osteoporos Int.* 2013;24(3):811-823. doi:10.1007/s00198-012-2240-2.
117. Ivergård M, Svedbom A, Hernlund E, et al. Epidemiology and economic burden of osteoporosis in Portugal. *Arch Osteoporos.* 2013;137(n.d):162-169.
118. REUMA. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. http://reuma.pt/pt_PT. Published 2018. Accessed June 5, 2018.
119. Branco J, Felicíssimo P, Monteiro J. A epidemiologia e o impacto socio-económico das fraturas da extremidade proximal do fémur. *Acta Reum Port.* 2009;34(3):475-485.
120. International Osteoporosis Foundation. Osteoporosis in the EU: medical management, epidemiology and economic burden. *Int Osteoporos Found.* 2013;n.d:1-3.
121. Mohd-Tahir NA, Thomas P, Mohamed-Said MS, et al. Cost-effectiveness of bisphosphonates for prevention of fracture related to glucocorticoid-induced osteoporosis in Malaysia. *Int J Rheum Dis.* 2017;21(3):1-9. doi:10.1111/1756-185X.13206.
122. Svedbom A, Hernlund E, Ivergård M, et al. Osteoporosis in the European Union: A compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos.* 2013;8(1-2):1-218. doi:10.1007/s11657-013-0137-0.
123. Goetz MP, Ames MM, Weinshilboum RM. Primer on Medical Genomics: Part XII: Pharmacogenomics - General Principles With Cancer as a Model. *Mayo Clin Proc.* 2004;79(3):376-384.
124. Shields PG, Harris CC. Molecular Epidemiology and the Genetics of Environmental Cancer. *JAMA Netw.* 1991;266(5):681-687.
125. Cheah PY. Recent advances in colorectal cancer genetics and diagnostics. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2009;69(1):45-55.
126. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet.* 2002;3(5):391-397.
127. NCBI. Gene. National Center of Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>. Published 2018. Accessed June 20, 2018.
128. Meier M, Janosik M, Kery V, et al. Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5' phosphate-dependent heme protein. *Embo J.* 2001;20(15):3910-3916.
129. Munke M, Kraus JP, Ohura T, et al. The Gene for Cystathionine P-Synthase (CBS) Maps to the Subtelomeric Region on Human Chromosome 21q and to Proximal Mouse Chromosome 17. *Am J Hum Genet.* 1988;42(n.d):550-559.
130. Sebastio G, Sperandeo MP, Panico M, et al. The molecular basis of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency in Italian families, and report of four novel mutations. *Am J Hum Genet.* 1995;56(6):1324-1333.
131. Romano M. G runs in cystathionine beta-synthase c.833C/c.844_845ins68 mRNA are splicing silencers of pathogenic 3' splice sites. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2010;1799(8):568-574.
132. Tsai MY, Bignell M, Schwichtenberg K, et al. High prevalence of a mutation in the cystathionine beta-synthase gene. *Am J Hum Genet.* 1996;59(6):1262-1267.

133. Kluijtmans L, Boers G, Trijbels F, et al. A common 844INS68 insertion variant in the cystathionine beta-synthase gene. *Biochem Mol Med*. 1997;62(1):23-25.
134. NCBI. Variation Viewer Homo sapiens. National Center of Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>. Published 2018. Accessed June 10, 2018.
135. Romano M, Marcucci R, Buratti E, et al. Regulation of 3' splice site selection in the 844ins68 polymorphism of the cystathionine B-synthase gene. *J Biol Chem*. 2002;277(46):43821-43829. doi:10.1074/jbc.M208107200.
136. Kumar T, Sharma GS, Singh LR. Homocystinuria: Therapeutic approach. *Clin Chim Acta*. 2016;458(n.d):55-62. doi:10.1016/j.cca.2016.04.002.
137. Jhee K-H, Kruger WD. The role of cystathionine beta-synthase in homocysteine metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(5-6):813-822.
138. Casique L, Kabil O, Banerjee R, et al. Characterization of two pathogenic mutations in cystathionine beta-synthase: different intracellular locations for wild-type and mutant proteins. *Gene*. 2013;531(1):117-124.
139. Miles EW, Kraus JP. Cystathionine β -Synthase: Structure, Function, Regulation, and Location of Homocystinuria-causing Mutations. *J Biol Chem*. 2004;279(n.d):29871-29874.
140. Elmore CL, Matthews RG. The Many Flavors of Hyperhomocyst(e)Inemia: Insights from Transgenic and Inhibitor-Based Mouse Models of Disrupted One-Carbon Metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(11):1911-1921.
141. Barbosa A, dos Santos M, de Podestá JRV, et al. Polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and cystathionine beta-synthase in oral cancer: a case - control study in southeastern Brazilians. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2016;82(n.d):1-9. doi:10.1016/j.bjorl.2015.10.012.
142. Kraus JP, Janošik M, Kožich V, et al. Cystathionine β -synthase mutations in homocystinuria. *Hum Mutat Var , Informatics, Dis*. 1999;13(5):362-375.
143. Fan BJ, Chen T, Grosskreutz C, et al. Lack of association of polymorphisms in homocysteine metabolism genes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Mol Vis*. 2008;14(n.d):2484- 2491.
144. Kumar J, Garg G, Karthikeyan G, et al. Cystathionine beta-synthase 844Ins68 polymorphism is not associated with the levels of homocysteine and cysteine in an Indian population. *Biomarkers*. 2010;15(3):283-287.
145. Kalmbach RD, Choumenkovitch SF, Troen AP, et al. A 19-base pair deletion polymorphism in dihydrofolate reductase is associated with increased unmetabolized folic acid in plasma and decreased red blood cell folate. *J Nutr*. 2008;138(12):2323-2327.
146. Stanisławska-Sachadyn A, Brown KS, Mitchell LE, et al. An insertion/deletion polymorphism of the dihydrofolate reductase (DHFR) gene is associated with serum and red blood cell folate concentrations in women. *Hum Genet*. 2008;123(3):289-295.
147. Nakano M, Fukami T, Gotoh S, et al. A-to-I RNA editing up-regulates human dihydrofolate reductase in breast cancer. *J Biol Chem*. 2017;292(12):4873-4884. doi:10.1074/jbc.M117.775684.
148. Mendes CC, Biselli JM, Zampieri BL, et al. 19-base pair deletion polymorphism of the dihydrofolate reductase (DHFR) gene: maternal risk of Down syndrome and folate metabolism. *Sao Paulo Med J*. 2010;128(4):215-218. doi:10.1590/S1516-31802010000400008.
149. Askari BS, Krajcinovic M. Dihydrofolate reductase gene variations in susceptibility to disease and treatment outcomes. *Curr Genomics*. 2010;11(8):578-583. doi:10.2174/138920210793360925.
150. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, et al. Folate and DNA Methylation: A Review of Molecular Mechanisms and the Evidence for Folate's Role. *Am Soc Nutr*. 2012;3(14):21-38. doi:10.3945/an.111.000992.Figure.

151. Maurer BJ, Barker PE, Masters JN, et al. Human dihydrofolate reductase gene is located in chromosome 5 and is unlinked to the related pseudogenes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81(n.d):1484-1488.
152. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995;10(1):111-113.
153. Langevin S, Lin D, Matsuo K, et al. Review and pooled analysis of studies on MTHFR C677T polymorphism and esophageal cancer. *Toxicol Lett*. 2009;184(2):73-80.
154. Araki A, Hosoi T, Orimo H, et al. Association of plasma homocysteine with serum interleukin-6 and C-peptide levels in patients with type 2 diabetes. *Metab Clin Exp*. 2005;54(6):809-914.
155. Biselli PM, Guerzoni AR, Goloni-Bertollo EM, et al. Variabilidade genética MTHFR no desenvolvimento da doença arterial coronária. *Ver Assoc Médica Bras*. 2009;55(3):274-278.
156. Miao X, Xing D, Tan W, et al. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(11):1454-1458.
157. Shmeleva VM, Kapustin SI, Papayan LP, et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T polymorphism in patients with arterial and venous thrombosis from North Western Russia. *Thromb Res*. 2003;111(6):351-356.
158. Hwang IW, Kang YD, Kwon BN, et al. Genetic variations of MTHFR gene and their association with preterm birth in Korean women. *Medicina*. 2018;53(n.d):380-385. Doi:10.1016/j.medici.2018.01.001.
159. Gul CB, Yildiz A, Ersoy A, et al. Correlation between arterial stiffness and inflammatory markers in autosomal dominant polycystic kidney disease patients with preserved renal function. *Int Urol Nephrol*. 2015;47(7):1187-1194.
160. Bazzaz JT, Shojapoor M, Nazem H, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in diabetes and obesity. *Mol Biol Rep*. 2010;37(1):105-109.
161. Gos M, Szpecht-Potocka A. Genetic basis of neural tube defects. II. Genes correlated with folate and methionine metabolism. *J Appl Genet*. 2002;43(4):511-524.
162. Romero-Sánchez C, Gómez-Gutierrez A, Gómez PE, et al. C677T (RS1801133) MTHFR gene polymorphism frequency in a colombian population. *Colomb Med*. 2015;46(2):75-79.
163. Guan JZ, Wu M, Xiao YZ, et al. MTHFR C677T polymorphism and osteoporotic fracture in postmenopausal women: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2014;13(3):7356-7364. doi:10.4238/2014.September.12.1.
164. Yang Y, Yin F, Hang Q, et al. Regulation of Endothelial Permeability by Glutathione S-Transferase Pi Against Actin Polymerization. *Cell Physiol Biochem*. 2018;45(n.d):406-418. doi:10.1159/000489326.
165. Sheehan D, Meade G, Foley VM, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases : implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem Soc*. 2001;360(n.d):1-16.
166. Uddin MMN, Ahmed MU, Islam MS, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, GSTP1 and GSTT1 genes and lung cancer susceptibility in the Bangladeshi population. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(12):982-989. doi:10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0476.
167. Rabab MA, Bothina MH. GSTM1 and GSTT1 Polymorphism in Egyptian Sick Cell Anemia Patients. *Int J Hematol Oncol*. 2013;23(4):269-275. doi:10.4999/uhod.13025.
168. Ragab SM, Badr EA, Ibrahim AS. Evaluation of Glutathione-S-Transferase P1 Polymorphism and its Relation to Bone Mineral Density in Egyptian Children and Adolescents with Beta-Thalassemia Major. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2016;8(1):1-10. doi:10.4084/mjhid.2016.004.

169. Amâncio AP, Silva DC, Melo CO, et al. Análise da Suscetibilidade alélica do gene GSTP1 em pacientes com carcinoma espinocelular de laringe. *Estud Goiânia*. 2012;339(2):95-105.
170. Laborde E. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. *Cell Death Differ*. 2010;17(9):1373-1380.
171. Eaton D, Bammier T. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci*. 1999;49(2):156-164.
172. Uddin MMN, Ahmed MU, Islam MS, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, GSTP1 and GSTT1 genes and lung cancer susceptibility in the Bangladeshi population. *Asian Pacific J Trop Biomed J*. 2014;4(12):982-989.
173. Barberino WM. Polimorfismos GSTM1, GSTT1 e GSTP1 da enzima Glutathione S-transferase como fatores moduladores do fenótipo na anemia falciforme, dissertação para a obtenção do grau de mestre em Genética, São José do Rio Preto. 2014.
174. Mlakar SJ, Osredkar J, Prezelj J, et al. Opposite effects of GSTM1-and GSTT1: gene deletion variants on bone mineral density. *Dis Markers*. 2011;31(5):279-287. doi:10.3233/DMA-2011-0829.
175. Cotignola J, Leonardi DB, Nuñez M, et al. Polymorphisms in GSTP1, GSTM1 and GSTT1 genes are associated with the risk of relapse in patients with childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematologia*. 2014;8(2):111-116.
176. Sharma A, Pandey A, Sharma S, et al. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) in Delhi population and comparison with other global populations. *Meta Gene*. 2014;2(n.d):134-142. doi:10.1016/j.mgene.2013.12.003.
177. Lahiri D, Nurnberger J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW ADN from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19(19):5444-5470.
178. Prestwood KM, Raisz LG. Prevention and treatment of osteoporosis. *Clin Cornerstone*. 2002;4(6):34-44. doi:10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.Prevention.
179. Cha S, Yu H, Kim JY. Bone mineral density-associated polymorphisms are associated with obesity-related traits in Korean adults in a sex-dependent manner. *PLoS One*. 2012;7(12):e53013.
180. Chen H, Li J, Wang Q. Associations between bone-alkaline phosphatase and bone mineral density in adults with and without diabetes. *Med (United States)*. 2018;97(17). doi:10.1097/MD.00000000000010432.
181. Mandal CC. High cholesterol deteriorates bone health: New insights into molecular mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6(n.d):1-11. doi:10.3389/fendo.2015.00165
182. Reed RM, Wise RA, Dobs AS, et al. Elevated HDL cholesterol levels are associated with osteoporosis in lung transplant candidates with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2010;104(12):1943-1950. doi:10.1016/j.rmed.2010.08.004.
183. Greenberg C, Kukreja S, Bowser E, et al. Effects of estradiol and progesterone on calcitonin secretion. *Endocrinology*. 1986;118(6):2595-2598. doi:https://doi.org/10.1210/endo-118-6-2594.
184. Elmesiry AM. Osteoporosis, Mineral Metabolism and Arthritis. *J Osteoporos Phys Act*. 2015;4(1):1-9.
185. Delmas P. Biochemical markers of bone turnover for the clinical investigation of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 1993;1(n.d):81-86.
186. Shakoar S, Ilyas F, Abbas N, et al. Prevalence of Osteoporosis in Relation To Serum Calcium and Phosphorus in Aging Women. *J Glob Innov Agric Soc Sci*. 2014;2(2):70-75. doi:10.17957/JGIASS/2.2.511.
187. Buzinaro EF, Almeida RNA, Mazeto GMFS. Biodisponibilidade do cálcio dietético. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006;50(5):852-861. doi:10.1590/S0004-27302006000500005.

188. Bharathi R, Baby D. Changes of serum acid phosphate and alkaline phosphatase in relation to age and the onset of osteoporosis among urban women. *Int J Chem Stud.* 2017;5(4):425-429.
189. Golub EE, Boesze-Battaglia K. The role of Alkaline Phosphatase in mineralization. *Curr Opin Orthop.* 2007;18(n.d):444-448. doi:10.1084/jem.93.5.415.
190. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;Suppl 3:S131-139.
191. Qu Y, Kang M-Y, Dong R-P, et al. Correlations Between Abnormal Glucose Metabolism and Bone Mineral Density or Bone Metabolism. *Med Sci Monit.* 2016;22:824-832. doi:10.12659/MSM.895387.
192. Simões R. Variação genética em mecanismos de neurotransmissão na osteoporose e em parâmetros metabólicos associados, dissertação para a obtenção do grau de mestre em Biologia Humana e Ambiente, Lisboa. 2017.
193. Simões R, Ferreira J, Barbosa AP, et al. Beta-2 adrenergic receptor (ADRB2) gene polymorphisms as risk factors for reduced bone mineral density. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab.* 2016;11(Supl 1):12-13. doi:10.1016/S1646-3439(16)30058-X.
194. Hong X, Hsu Y-H, Terwedow H, et al. Association of the Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and fracture risk in Chinese postmenopausal women. *Bone.* 2007;40(3):737-742.
195. Li D, Wu J. Association of the C677T polymorphism and bone mineral density in postmenopausal women: a meta - analysis. *J Biomed Res.* 2010;24(6):417-423.
196. Liew S-C, Gupta E Das. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet.* 2015;58(n.d):1-10.
197. Barbieri L, Verdoia M, Schaffer A, et al. Elevated Homocysteine and the Risk of Contrast-Induced Nephropathy A Cohort Study. *Angiology.* 2015;66(n.d):333-338.
198. Scorsatto M, Pimentel MMG, Santos-Rebouças CB, et al. Association between homocysteine and polymorphisms in MTHFR in Brazilian obese women. *Int J Cardiovasc Sci.* 2015;28(1):16-24.

8 Anexos

8.1 Protocolos

8.1.1 Anexo 1 – Protocolo Experimental: Extração de ADN pelo método de *salting-out*

1. O sangue periférico é colhido num tubo com anticoagulante EDTA.
2. Transfere-se para um tubo rolhado e graduado de 10mL.
3. Adiciona-se 1 volume de TKM X-100 tendo o cuidado de adicionar parte deste tubo onde a amostra foi colhida de forma a evitar desperdícios de sangue.
4. Adiciona-se 25 μ L de IPGEPAL CA 630 por cada mL de sangue, com o objetivo de lisar as células, com consequente libertação de ADN e outros constituintes celulares.
5. O tubo é agitado 4-5 vezes por inversão vigorosa.
6. Segue-se uma centrifugação a 2200 rpm, à temperatura de aproximadamente 4°C, durante 15min, que deve ser repetida caso o *pellet* formado não adira ao fundo do tubo.
7. O sobrenadante é rejeitado e ao *pellet* que contém, entre outros constituintes, o ADN, é adicionado 1 mL de tampão TKM 1 por cada mL de sangue.
8. Centrifuga-se à mesma temperatura, a 1600 rpm e por um período de 10 min e são repetidos os passos de rejeição do *pellet* e adição de tampão TKM 1.
9. O passo anterior é repetido no máximo duas vezes, de forma a obter um *pellet* branco, evitando assim perdas excessivas de ADN.
10. Ressuspende-se o *pellet* (vórtex) na solução TKM 2 numa proporção de 160 μ L de tampão por mL de sangue.
11. Adiciona-se 10 μ L de SDS 10% por mL de sangue e a mistura é ressuspensa com o auxílio de uma micropipeta. Este reagente dissolve as proteínas ainda existentes em solução.
12. Incuba-se a 55°C durante 10 min.
13. Ao fim deste intervalo de tempo o conteúdo do tubo é transferido para um *eppendorf* ao qual se adicionam 60 μ L de NaCl saturado por mL de sangue. Visualiza-se de imediato a precipitação de proteínas existentes na suspensão de ADN que formam uma fase branca opaca distinta de outra completamente transparente (suspensão de ADN).
14. Agita-se o tubo *eppendorf* (vórtex).
15. Centrifuga-se (centrífuga de *eppendorfs*) a 1200 rpm, a 4°C e por 30min (*salting-out*).
16. Verte-se o sobrenadante (que contém o ADN) resultante da centrifugação anterior para um tubo de vidro e adicionam-se 2 volumes de etanol absoluto gelado (colocado a -20°C, cerca de 5min antes de ser utilizado).
17. O tubo, devidamente selado com parafilme, é invertido suavemente até precipitação do ADN.
18. Ressuspende-se o ADN em 200 μ L de tampão TE previamente colocados no tubo *eppendorf* devidamente rotulado e armazena-se a 4°C.

8.2 Material, Reagentes, Soluções

8.2.1 *Anexo 2 – Equipamento de laboratório e reagentes*

→ Extração de ADN:

- Centrífuga refrigerada de alta velocidade 3K1S (Sigma);
- Aparelho de banho-maria SS30 (Grant Instruments);
- Microcentrífuga Heraeus FRESCO 17 (Thermo Scientific);
- Espectrofotômetro NanoDrop ND-2000 (Thermo Scientific).

→ Identificação dos Polimorfismos em Estudo:

- Termociclador 2720 (Applied Biosystems);
- Sistema de eletroforese (Amersham Pharmacia Biotech);
- Transiluminador de Ultravioleta GenoSmart (VWR).

→ Reagentes Extração de ADN:

- IGEPAL CA-630 - octilfenoxi polietoxietanol (Sigma-Aldrich).

→ Identificação dos Polimorfismos em Estudo:

- Dream Taq Green PCR Master Mix (2x) (Thermo Scientific);
- “*Primers*” específicos para os genes da C β S, DHFR, MTHFR, GSTT1, GSTM1, GSTM4, GSTP1 (Invitrogen);
- Enzima de restrição Hinf I e Alw 26I (Thermo Scientific);
- Agarose Seaken LE (Lonza);
- Brometo de etídio 8 mg/ml (Promega);
- Marcador de peso molecular Gene Ruler 50 bp ADN Ladder, 50-1000 bp (Thermo Scientific).

8.2.2 *Anexo 3 – Soluções*

→ Extração de ADN:

- TKMX-100: 2,5 % (v/v) Triton X-100 diluído em tampão TKM1;
- Tampão TKM1: 10 mM Tris-HCl pH 7.6, 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA;
- Tampão TKM2: 10 mM Tris-HCl pH 7.6, 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, 0,4 M NaCl;
- SDS 10%;
- NaCl 6M;
- Tampão TE: 10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA.

→ Identificação dos Polimorfismos em Estudo:

- Tampão TAE 1X - 0.004 M Tris-acetato, 0.1 mM EDTA pH 8.0 (produzido a partir de uma solução stock 10X concentrada).

8.3 Tabelas completas/Correlações

8.3.1 Anexo 4 – Correlação entre os Parâmetros de Remodelação Óssea e os Parâmetros Metabólicos

8.3.1.1 População Total

Tabela 8.1 – Correlação de Spearman entre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para a população Total

		Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Glicemia (mmol/L)	Insulina (mcU/mL)	HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	Colesterol _{Total} (mg/mL)	HDL (mg/mL)	LDL (mg/mL)	Triglicéridos	Calcemia (mg/dL)	Fosfatemia	PTH (pg/mL)	Fosfatase alcalina (U/l)	Fração óssea	Osteocalcina
Idade (anos)	R	/	0,159	0,251	0,006	0,111	0,155	-0,085	0,179	0,093	0,075	-0,012	0,170	0,093	0,068	0,068
	P	/	0,000	0,000	0,902	0,030	0,002	0,087	0,000	0,063	0,326	0,878	0,001	0,063	0,210	0,230
	N	/	503	420	393	385	411	404	387	403	172	169	403	399	340	315
IMC (kg/m ²)	R	/	/	0,148	0,446	0,341	0,034	-0,353	0,112	0,261	0,035	-0,130	0,092	0,133	0,141	-0,118
	P	/	/	0,002	0,000	0,000	0,495	0,000	0,028	0,000	0,646	0,092	0,064	0,008	0,009	0,036
	N	/	/	420	393	385	411	404	387	403	172	169	403	399	340	315
Glicemia (mmol/L)	R	/	/	/	0,212	0,585	0,071	-0,105	0,014	0,248	-0,035	0,001	-0,061	0,167	0,187	-0,059
	P	/	/	/	0,000	0,000	0,159	0,040	0,794	0,000	0,667	0,990	0,244	0,001	0,001	0,319
	N	/	/	/	389	385	392	385	369	385	152	151	368	365	309	287
Insulina (mcU/mL)	R	/	/	/	/	0,824	-0,014	-0,301	-0,003	0,318	0,045	0,042	0,000	0,153	0,132	-0,141
	P	/	/	/	/	0,000	0,783	0,000	0,958	0,000	0,597	0,621	1,000	0,004	0,023	0,019
	N	/	/	/	/	385	366	360	348	359	139	140	355	346	297	277
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	R	/	/	/	/	/	0,060	-0,224	0,023	0,337	0,059	0,102	-0,023	0,191	0,173	-0,110
	P	/	/	/	/	/	0,255	0,000	0,672	0,000	0,498	0,240	0,672	0,000	0,003	0,070
	N	/	/	/	/	/	362	356	344	355	134	135	348	340	294	272
Colesterol _{Total} (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	0,276	0,905	0,255	-0,032	-0,041	0,090	0,100	0,158	-0,110
	P	/	/	/	/	/	/	0,000	0,000	0,000	0,698	0,626	0,089	0,056	0,005	0,064
	N	/	/	/	/	/	/	404	387	403	149	147	355	361	308	282
HDL (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	/	-0,001	-0,307	0,028	0,041	-0,004	-0,133	-0,096	-0,046
	P	/	/	/	/	/	/	/	0,986	0,000	0,737	0,624	0,934	0,013	0,097	0,444
	N	/	/	/	/	/	/	/	386	397	147	145	348	354	302	278

LDL (mg/mL)	R									0,106	-0,032	-0,066	0,130	0,120	0,158	-0,076
	P									0,038	0,709	0,435	0,017	0,027	0,007	0,218
	N									381	141	141	336	339	291	267
Triglicéridos	R										-0,062	-0,084	0,051	0,122	0,126	-0,103
	P										0,458	0,317	0,341	0,022	0,029	0,087
	N										147	145	348	355	303	278
Calcemia (mg/dL)	R											-0,033	-0,041	0,020	0,105	-0,014
	P											0,677	0,608	0,806	0,265	0,867
	N											165	159	153	115	146
Fosfatemia	R												-0,216	0,152	0,091	0,208
	P												0,006	0,062	0,333	0,012
	N												157	151	116	144
PTH (pg/mL)	R													0,018	0,009	0,046
	P													0,728	0,869	0,437
	N													362	312	290
Fosfatase alcalina (UI/l)	R														0,924	0,257
	P														0,000	0,000
	N														340	296
Fração óssea	R															0,209
	P															0,001
	N															251
Osteocalcina	R															
	P															
	N															

8.3.1.2 Classificação de DMO

→ População Controlo (DMO normal)

Tabela 8.2– Correlação de Spearman entre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para a população controlo (DMO normal)

		Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Glicemia (mmol/L)	Insulina (mcUI/mL)	HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	Colesterol _{Total} (mg/mL)	HDL (mg/mL)	LDL (mg/mL)	Triglicéridos	Calcemia (mg/dL)	Fosfatemia	PTH (pg/mL)	Fosfatase alcalina (U/l)	Fração óssea	Osteocalcina
Idade (anos)	R		0,303	00,345	00,085	00,194	0,215	-0,126	0,304	0,057	-0,150	0,024	0,106	0,213	0,213	-0,023
	P		0,000	0,000	0,306	0,019	0,007	0,123	0,000	0,491	0,298	0,874	0,207	0,012	0,017	0,823
	N		185	159	146	145	155	151	142	150	50	45	144	139	125	96
IMC (kg/m ²)	R			-0,022	0,405	0,342	0,044	-0,361	0,142	0,212	-0,109	0,019	0,106	0,197	0,181	-0,159
	P			0,780	0,000	0,000	0,589	0,000	0,092	0,009	0,450	0,903	0,206	0,020	0,043	0,122
	N			159	146	145	155	151	142	150	50	45	144	139	125	96
Glicemia (mmol/L)	R				0,073	0,362	0,118	-0,031	0,017	0,154	-0,010	0,204	-0,167	0,237	0,223	-0,116
	P				0,382	0,000	0,150	0,714	0,839	0,064	0,945	0,196	0,050	0,006	0,015	0,279
	N				145	145	150	146	138	146	46	42	137	132	118	89
Insulina (mcUI/mL)	R					0,923	-0,039	-0,442	-0,019	0,374	-0,090	0,252	0,043	0,104	0,055	-0,144
	P					0,000	0,652	0,000	0,831	0,000	0,576	0,122	0,626	0,249	0,566	0,185
	N					145	139	135	131	135	41	39	129	125	113	87
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	R						0,068	-0,409	-0,003	0,417	-0,056	0,274	-0,005	0,201	0,155	-0,140
	P						0,425	0,000	0,974	0,000	0,727	0,091	0,953	0,025	0,103	0,199
	N						138	134	130	134	41	39	129	124	112	86
Colesterol _{Total} (mg/mL)	R							0,295	0,869	0,243	-0,027	0,060	0,047	0,237	0,349	-0,148
	P							0,000	0,000	0,003	0,860	0,713	0,595	0,006	0,000	0,162
	N							151	142	150	44	40	132	132	118	91
HDL (mg/mL)	R								0,036	-0,344	0,085	-0,109	-0,160	-0,115	-0,079	0,014
	P								0,674	0,000	0,583	0,503	0,072	0,198	0,406	0,894
	N								141	146	44	40	128	128	114	90
LDL (mg/mL)	R									0,019	0,005	0,123	0,211	0,188	0,256	-0,130
	P									0,821	0,975	0,449	0,019	0,039	0,007	0,231
	N									137	42	40	123	121	108	87

Triglicéridos	R										-0,105	0,026	0,025	0,149	0,223	-0,103
	P										0,501	0,876	0,779	0,093	0,017	0,335
	N										43	39	128	128	114	89
Calcemia (mg/dL)	R											-0,137	0,265	0,115	0,118	-0,001
	P											0,374	0,071	0,458	0,529	0,995
	N											44	47	44	31	38
Fosfatemia	R												-0,428	-0,050	0,017	-0,161
	P												0,004	0,757	0,930	0,347
	N												43	40	29	36
PTH (pg/mL)	R													0,110	0,183	0,177
	P													0,223	0,054	0,103
	N													125	112	86
Fosfatase alcalina (UI/l)	R														0,931	0,032
	P														0,000	0,763
	N														125	92
Fração óssea	R															0,125
	P															0,268
	N															81
Osteocalcina	R															
	P															
	N															

→ População com Osteopenia

Tabela 8.3– Correlação de Spearman entre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para a população com Osteopenia

		Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Glicemia (mmol/L)	Insulina (mcUI/mL)	HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	Colesterol _{Total} (mg/mL)	HDL (mg/mL)	LDL (mg/mL)	Triglicéridos	Calcemia (mg/dL)	Fosfatemia	PTH (pg/mL)	Fosfatase alcalina (UI/l)	Fração óssea	Osteocalcina
Idade (anos)	R	/	0,342	0,338	0,181	0,238	-0,093	-0,131	-0,111	0,218	0,076	-0,197	0,012	0,180	0,151	-0,005
	P	/	0,000	0,000	0,050	0,010	0,298	0,144	0,225	0,015	0,619	0,190	0,893	0,040	0,108	0,959
	N	/	160	124	118	116	126	126	121	124	45	46	128	130	114	105
IMC (kg/m ²)	R	/	/	0,217	0,507	0,349	0,008	-0,414	0,135	0,264	0,122	-0,280	0,124	0,238	0,238	-0,010
	P	/	/	0,015	0,000	0,000	0,928	0,000	0,140	0,003	0,424	0,059	0,163	0,006	0,011	0,920
	N	/	/	124	118	116	126	126	121	124	45	46	128	130	114	105
Glicemia (mmol/L)	R	/	/	/	0,386	0,777	-0,004	-0,212	-0,004	0,282	0,108	-0,031	-0,164	0,252	0,304	-0,117
	P	/	/	/	0,000	0,000	0,964	0,023	0,968	0,002	0,526	0,854	0,086	0,007	0,002	0,266
	N	/	/	/	116	116	115	115	110	113	37	38	111	112	98	93
Insulina (mcUI/mL)	R	/	/	/	/	0,790	0,000	-0,215	0,002	0,283	0,134	-0,220	0,042	0,336	0,336	-0,182
	P	/	/	/	/	0,000	0,998	0,026	0,982	0,003	0,457	0,211	0,669	0,000	0,001	0,088
	N	/	/	/	/	116	108	108	103	106	33	34	108	105	92	89
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	R	/	/	/	/	/	0,042	-0,157	0,021	0,296	0,115	-0,094	-0,040	0,320	0,306	-0,142
	P	/	/	/	/	/	0,666	0,106	0,835	0,002	0,529	0,604	0,687	0,001	0,003	0,184
	N	/	/	/	/	/	107	107	102	105	32	33	106	104	91	89
Colesterol _{Total} (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	0,315	0,910	0,137	-0,027	-0,079	-0,070	-0,050	-0,003	-0,128
	P	/	/	/	/	/	/	0,000	0,000	0,129	0,872	0,628	0,466	0,596	0,977	0,230
	N	/	/	/	/	/	/	126	121	124	39	40	110	113	99	90
HDL (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	/	0,011	-0,338	0,078	0,343	-0,017	-0,137	-0,110	-0,050
	P	/	/	/	/	/	/	/	0,909	0,000	0,637	0,030	0,857	0,147	0,278	0,637
	N	/	/	/	/	/	/	/	121	124	39	40	110	113	99	90
LDL (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	/	/	0,011	-0,045	-0,161	-0,052	-0,032	0,036	-0,024
	P	/	/	/	/	/	/	/	/	0,904	0,793	0,333	0,599	0,743	0,727	0,831
	N	/	/	/	/	/	/	/	/	120	37	38	106	108	95	85
Triglicéridos	R	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-0,014	-0,238	-0,022	0,121	0,051	-0,213
	P	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,934	0,139	0,822	0,204	0,619	0,045
	N	/	/	/	/	/	/	/	/	/	39	40	108	112	99	89

Calcemia (mg/dL)	R											0,028	-0,451	0,140	0,116	-0,107
	P											0,857	0,003	0,376	0,493	0,505
	N											45	41	42	37	41
Fosfatemia	R												0,020	-0,182	-0,263	0,085
	P												0,901	0,244	0,111	0,592
	N												42	43	38	42
PTH (pg/mL)	R													0,030	0,038	-0,020
	P													0,748	0,701	0,844
	N													118	106	99
Fosfatase alcalina (UI/l)	R														0,921	0,034
	P														0,000	0,738
	N														114	99
Fração óssea	R															0,080
	P															0,458
	N															89
Osteocalcina	R															
	P															
	N															

→ População com Osteoporose

Tabela 8.4– Correlação de Spearman entre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para a população com Osteoporose

		Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Glicemia (mmol/L)	Insulina (mcUI/mL)	HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	Colesterol _{Total} (mg/mL)	HDL (mg/mL)	LDL (mg/mL)	Triglicéridos	Calcemia (mg/dL)	Fosfatemia	PTH (pg/mL)	Fosfatase alcalina (UI/l)	Fração óssea	Osteocalcina
Idade (anos)	R	/	0,118	0,151	-0,107	0,018	0,189	-0,072	0,181	0,115	0,073	0,167	0,248	-0,145	-0,191	-0,002
	P	/	0,141	0,078	0,226	0,842	0,031	0,420	0,044	0,194	0,526	0,145	0,004	0,101	0,055	0,981
	N	/	158	137	129	124	130	127	124	129	77	78	131	130	101	114
IMC (kg/m ²)	R	/	/	0,277	0,396	0,414	0,117	-0,273	0,139	0,321	0,081	-0,170	0,128	0,096	0,134	-0,117
	P	/	/	0,001	0,000	0,000	0,187	0,002	0,123	0,000	0,484	0,137	0,146	0,278	0,180	0,214
	N	/	/	137	129	124	130	127	124	129	77	78	131	130	101	114
Glicemia (mmol/L)	R	/	/	/	0,136	0,495	0,101	-0,068	0,029	0,356	-0,050	-0,060	0,149	0,086	0,100	0,019
	P	/	/	/	0,126	0,000	0,258	0,450	0,749	0,000	0,684	0,620	0,104	0,350	0,339	0,848
	N	/	/	/	128	124	127	124	121	126	69	71	120	121	93	105
Insulina (mcUI/mL)	R	/	/	/	/	0,870	0,070	-0,182	0,067	0,258	0,086	0,015	-0,033	0,098	0,072	-0,093
	P	/	/	/	/	0,000	0,449	0,050	0,477	0,005	0,497	0,904	0,722	0,294	0,497	0,354
	N	/	/	/	/	124	119	117	114	118	65	67	118	116	92	101
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	R	/	/	/	/	/	0,178	-0,132	0,123	0,429	0,160	0,072	0,076	0,126	0,125	-0,062
	P	/	/	/	/	/	0,055	0,159	0,195	0,000	0,217	0,576	0,423	0,185	0,239	0,549
	N	/	/	/	/	/	117	115	112	116	61	63	113	112	91	97
Colesterol _{Total} (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	0,209	0,929	0,407	-0,059	-0,041	0,193	0,108	0,159	-0,131
	P	/	/	/	/	/	/	0,019	0,000	0,000	0,640	0,740	0,041	0,247	0,132	0,191
	N	/	/	/	/	/	/	127	124	129	66	67	113	116	91	101
HDL (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	/	-0,067	-0,210	0,038	-0,049	0,151	-0,146	-0,097	-0,064
	P	/	/	/	/	/	/	/	0,463	0,018	0,766	0,699	0,115	0,123	0,365	0,534
	N	/	/	/	/	/	/	/	124	127	64	65	110	113	89	98
LDL (mg/mL)	R	/	/	/	/	/	/	/	/	0,276	-0,061	-0,065	0,154	0,203	0,229	-0,125
	P	/	/	/	/	/	/	/	/	0,002	0,636	0,615	0,113	0,033	0,031	0,228
	N	/	/	/	/	/	/	/	/	124	62	63	107	110	88	95
Triglicéridos	R	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-0,106	-0,056	0,163	0,131	0,137	-0,050
	P	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,400	0,654	0,086	0,164	0,199	0,624
	N	/	/	/	/	/	/	/	/	/	65	66	112	115	90	100

Calcemia (mg/dL)	R												-0,030	-0,076	0,001	0,109	-0,036
	P												0,794	0,528	0,991	0,468	0,773
	N												76	71	67	47	67
Fosfatemia	R													-0,270	0,343	0,288	0,378
	P													0,022	0,004	0,045	0,002
	N													72	68	49	66
PTH (pg/mL)	R														-0,076	-0,135	-0,028
	P														0,413	0,194	0,778
	N														119	94	105
Fosfatase alcalina (UI/l)	R															0,924	0,395
	P															0,000	0,000
	N															101	105
Fração óssea	R																0,293
	P																0,008
	N																81
Osteocalcina	R																
	P																
	N																

→ População com Osteopenia ou Osteoporose

Tabela 8.5– Correlação de Spearman entre os parâmetros antropométricos, sociodemográficos e metabólicos para a população com Osteopenia ou Osteoporose

		Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	Glicemia (mmol/L)	Insulina (mcUI/mL)	HOMA _{IR} (mcU/ ml.mmol)	Colesterol _{Total} (mg/mL)	HDL (mg/mL)	LDL (mg/mL)	Triglicéridos	Calcemia (mg/dL)	Fosfatemia	PTH (pg/mL)	Fosfatase alcalina (UI/l)	Fração óssea	Osteocalcina
Idade (anos)	R		0,221	0,224	0,022	0,107	0,092	-0,083	0,078	0,169	0,084	-0,010	0,168	0,020	-0,015	0,051
	P		0,000	0,000	0,732	0,099	0,141	0,186	0,224	0,007	0,360	0,910	0,007	0,744	0,822	0,451
	N		318	261	247	240	256	253	245	253	122	124	259	260	215	219
IMC (kg/m ²)	R			0,246	0,456	0,346	0,055	-0,351	0,127	0,289	0,067	-0,200	0,126	0,150	0,175	-0,074
	P			0,000	0,000	0,000	0,382	0,000	0,047	0,000	0,461	0,026	0,043	0,016	0,010	0,276
	N			261	247	240	256	253	245	253	122	124	259	260	215	219
Glicemia (mmol/L)	R				0,291	0,666	0,048	-0,144	0,010	0,317	-0,042	-0,047	-0,010	0,147	0,178	-0,040
	P				0,000	0,000	0,460	0,026	0,880	0,000	0,672	0,628	0,879	0,025	0,014	0,573
	N				244	240	242	239	231	239	106	109	231	233	191	198
Insulina (mcUI/mL)	R					0,799	0,014	-0,201	0,014	0,262	0,082	-0,057	-0,003	0,187	0,175	-0,131
	P					0,000	0,830	0,002	0,835	0,000	0,424	0,572	0,961	0,005	0,017	0,071
	N					240	227	225	217	224	98	101	226	221	184	190
HOMA _{IR} (mcU/ ml.mmol)	R						0,062	-0,143	0,032	0,307	0,142	0,027	-0,023	0,191	0,180	-0,099
	P						0,357	0,033	0,639	0,000	0,175	0,796	0,739	0,005	0,015	0,178
	N						224	222	214	221	93	96	219	216	182	186
Colesterol _{Total} (mg/mL)	R							0,262	0,922	0,276	-0,039	-0,070	0,102	0,037	0,066	-0,108
	P							0,000	0,000	0,000	0,691	0,475	0,128	0,579	0,369	0,135
	N							253	245	253	105	107	223	229	190	191
HDL (mg/mL)	R								-0,025	-0,279	0,033	0,094	0,072	-0,143	-0,108	-0,060
	P								0,701	0,000	0,744	0,341	0,291	0,032	0,141	0,416
	N								245	251	103	105	220	226	188	188
LDL (mg/mL)	R									0,164	-0,041	-0,114	0,084	0,082	0,112	-0,072
	P									0,010	0,684	0,256	0,223	0,228	0,131	0,335
	N									244	99	101	213	218	183	180
Triglicéridos	R										-0,069	-0,129	0,085	0,125	0,085	-0,103
	P										0,483	0,187	0,211	0,060	0,247	0,160
	N										104	106	220	227	189	189

Calcemia (mg/dL)	R												-0,032	-0,061	0,014	0,116	-0,020
	P												0,728	0,522	0,886	0,295	0,840
	N												121	112	109	84	108
Fosfatemia	R													-0,167	0,189	0,113	0,277
	P													0,076	0,047	0,299	0,004
	N													114	111	87	108
PTH (pg/mL)	R														-0,023	-0,057	0,001
	P														0,728	0,422	0,989
	N														237	200	204
Fosfatase alcalina (UI/l)	R															0,923	0,287
	P															0,000	0,000
	N															215	204
Fração óssea	R																0,211
	P																0,006
	N																170
Osteocalcina	R																
	P																
	N																

8.3.2 Anexo 5 – Relação entre os Polimorfismos Genéticos estudados e a Densidade Mineral Óssea

Tabela 8.6 – Relação entre os polimorfismos genéticos estudados e a DMO (DMO normal vs Osteopenia ou Osteoporose)

Polimorfismos Genéticos		DMO Normal N (%)	Osteopenia ou Osteoporose N (%)	P	P*	Or
CβS ins68 pb exão 8	Del/Del	141 (76,2%)	260 (81,8%)	0,325	0,523	-
	Ins/Del	42 (22,7%)	55 (17,3%)			
	Ins/Ins	2 (1,1%)	3 (0,9%)			
	Del/Del ou Ins/Del	183 (98,9%)	315 (99,1%)	1,000	0,984	-
	Ins/Ins	2 (1,1%)	3 (0,9%)			
	Del/Del	141 (76,2%)	260 (81,8%)			
DHFR del19 pb intraão 1	Ins/Del ou Ins/Ins	44 (23,8%)	58 (18,2%)	0,169	0,267	-
	Ins/Ins	50 (27,0%)	102 (32,1%)			
	Ins/Del	106 (57,3%)	152 (47,8%)			
	Del/Del	29 (15,7%)	64 (20,1%)	0,262	0,259	-
	Ins/Ins ou Ins/Del	156 (84,3%)	254 (79,9%)			
	Del/Del	29 (15,7%)	64 (20,1%)			
MTHFR C677T	Ins/Ins	50 (27,0%)	102 (32,1%)	0,276	0,139	-
	Ins/Del ou Del/Del	135 (73,0%)	216 (67,9%)			
	CC	79 (42,7%)	152 (47,8%)			
	CT	74 (40,0%)	132 (41,5%)	0,099	0,020	-
	TT	32 (17,3%)	34 (10,7%)			
	CC ou CT	153 (82,7%)	284 (89,3%)			
GSTT1	TT	32 (17,3%)	34 (10,7%)	0,036	0,008	OR (CC ou CT) = 2,205 IC 95% [1,231-3,948]
	CC	79 (42,7%)	152 (47,8%)			
	CT ou TT	106 (57,3%)	166 (52,2%)			
GSTM1	CC	79 (42,7%)	152 (47,8%)	0,311	0,073	-
	CT ou TT	106 (57,3%)	166 (52,2%)			
	Nulo	44 (23,8%)	81 (25,5%)			
GSTP1 Ile105Val	Não nulo	141 (76,2%)	237 (74,5%)	0,673	0,697	-
	Nulo	78 (42,2%)	157 (49,4%)			
	Não nulo	107 (57,8%)	161 (50,6%)			
GSTP1 Ile105Val	AA	68 (36,8%)	129 (40,6%)	0,638	0,856	-
	AG	97 (52,4%)	153 (48,1%)			
	GG	20 (10,8%)	36 (11,3%)			
	AA ou AG	165 (89,2%)	282 (88,7%)	0,977	0,644	-
	GG	20 (10,8%)	36 (11,3%)			
	AA	68 (36,8%)	129 (40,6%)			
GSTP1 Ile105Val	AG ou GG	117 (63,2%)	189 (59,4%)	0,454	0,863	-

N – número de indivíduos analisados. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); CβS – cistationina β-sintetase; p* valor de significância ajustado para a idade e IMC; OR – odds ratio proveniente da regressão logística binária; IC – intervalo de confiança; p – Teste χ^2 de Person; Valores significativos para $p < 0.05$.

8.3.3 Anexo 6 – Relação entre os Polimorfismos Genéticos e os Parâmetros Antropométricos e Metabólicos

8.3.3.1 Polimorfismo da C β S

Tabela 8.7 – Relação entre o polimorfismo da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(401)28,15 \pm 5,04	(102)28,52 \pm 4,96	0,510
Glicemia (mmol/L)	(332)96,36 \pm 38,04	(88)95,59 \pm 29,78	0,860
Insulina (mcUI/mL)	(308)8,51 \pm 6,18	(85)8,93 \pm 5,3	0,567
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(304)2,13 \pm 2,44	(81)2,16 \pm 1,49	0,906
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(328)201,27 \pm 40,53	(83)196,72 \pm 34,26	0,347
HDL (mg/mL)	(324)57,48 \pm 14,57	(80)60,73 \pm 16	0,081
LDL (mg/mL)	(308)121,47 \pm 34,67	(79)116,23 \pm 34,42	0,231
Triglicéridos (mg/ml)	(320)111,99 \pm 57,89	(83)113,86 \pm 64,8	0,799
Calcemia (mg/dL)	(146)9,79 \pm 5,05	(26)9,48 \pm 0,44	0,762
Fosfatemia (mg/dl)	(143)3,47 \pm 0,56	(26)3,45 \pm 0,5	0,849
PTH (pg/mL)	(319)50,02 \pm 23,63	(84)45,73 \pm 19,93	0,127
Fosfatase alcalina (UI)	(317)67,84 \pm 23,79	(82)77,04 \pm 41,51	0,057
Fração óssea (μ g/L)	(269)10,66 \pm 4,81	(71)12,42 \pm 8,76	0,106
Osteocalcina (ng/ml)	(253)7,43 \pm 8,9	(62)6,95 \pm 5,14	0,688

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) para a população total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.8– Relação entre o polimorfismo da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(129)27,47 \pm 5	(31)27,52 \pm 5,12	0,956
Glicemia (mmol/L)	(99)99,33 \pm 43,82	(25)90 \pm 19,75	0,302
Insulina (mcUI/mL)	(92)8,66 \pm 6,99	(26)8,87 \pm 6,1	0,893
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(91)2,44 \pm 3,57	(25)2,07 \pm 1,72	0,615
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(102)197,69 \pm 38,3	(24)196,75 \pm 31,8	0,912
HDL (mg/mL)	(102)56,57 \pm 15,49	(24)63,29 \pm 14,85	0,056
LDL (mg/mL)	(98)119,5 \pm 34,63	(23)112,74 \pm 28,99	0,388
Triglicéridos (mg/ml)	(100)107,7 \pm 49,63	(24)110,33 \pm 79,84	0,838
Calcemia (mg/dL)	(36)9,22 \pm 0,44	(9)9,39 \pm 0,42	0,292
Fosfatemia (mg/dl)	(37)3,62 \pm 0,55	(9)3,2 \pm 0,49	0,042
PTH (pg/mL)	(100)48,24 \pm 26,23	(28)43,82 \pm 20,55	0,412
Fosfatase alcalina (UI)	(102)68,45 \pm 24,99	(28)74 \pm 24,65	0,299
Fração óssea (μ g/L)	(90)10,74 \pm 5,07	(24)12,71 \pm 5,89	0,106
Osteocalcina (ng/ml)	(85)6,63 \pm 7,08	(20)6,68 \pm 3,89	0,978

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.9 – Relação entre o polimorfismo da C β S (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Del/Del (N) Média \pm desvio padrão	Ins/Del ou Ins/Ins (N) Média \pm desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(260)27,33 \pm 4,73	(58)27,81 \pm 4,99	0,491

Glicemia (mmol/L)	(212)97,35±41,83	(49)93,51±23,38	0,535
Insulina (mcUI/mL)	(199)8,02±5,87	(48)8,4±5,26	0,680
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(195)2,07±2,68	(45)2,04±1,5	0,935
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(211)203,19±40,18	(45)200,29±37,43	0,656
HDL (mg/mL)	(209)58,05±14,74	(44)60,27±14,66	0,364
LDL (mg/mL)	(202)123,73±35,84	(43)118,84±34,52	0,414
Triglicéridos (mg/ml)	(208)108,98±49,82	(45)112,58±69,79	0,685
Calcemia (mg/dL)	(102)9,93±6,03	(20)9,47±0,33	0,730
Fosfatemia (mg/dl)	(103)3,46±0,6	(21)3,41±0,48	0,730
PTH (pg/mL)	(210)51,66±25,44	(49)46,92±19,01	0,221
Fosfatase alcalina (UI)	(210)68,72±25,08	(50)84,28±49,44	0,035
Fração óssea (µg/L)	(175)10,74±5,1	(40)14,6±10,93	0,035
Osteocalcina (ng/ml)	(183)8±9,72	(36)8,21±5,49	0,899

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da CβS (Del/Del vs Ins/Del ou Ins/Ins) para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

8.3.3.2 Polimorfismo da DHFR

Tabela 8.10– Relação entre o polimorfismo da DHFR (Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia ou Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins ou Ins/Del (N) Média ± desvio padrão	Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(254)27,27±4,73	(64)28,01±4,96	0,268
Glicemia (mmol/L)	(208)95,35±35,28	(53)101,68±51,26	0,292
Insulina (mcUI/mL)	(198)7,64±4,78	(49)9,95±8,43	0,069
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(191)1,85±1,58	(49)2,89±4,50	0,117
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(205)205,43±38,68	(51)191,63±41,98	0,026
HDL (mg/mL)	(204) 58,40±14,85	(49) 58,61±14,33	0,927
LDL (mg/mL)	(197) 125,09±34,90	(48) 113,79±37,31	0,048
Triglicéridos (mg/ml)	(203) 111,23±54,24	(50) 103,06±51,84	0,337
Calcemia (mg/dL)	(94) 10,04±6,27	(28) 9,24±0,41	0,505
Fosfatemia (mg/dl)	(96) 3,43±0,59	(28) 3,54±0,55	0,385
PTH (pg/mL)	(205) 50,28±24,09	(54) 52,58±25,64	0,538
Fosfatase alcalina (UI)	(203) 70,74±26,96	(57) 75,19±44,96	0,350
Fração óssea (µg/L)	(164) 11,33±5,47	(51) 11,88±9,77	0,609
Osteocalcina (ng/ml)	(170) 8,42±9,92	(49) 6,70±5,58	0,248

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR (Ins/Ins ou Ins/Del vs Del/Del) para a população com Osteopenia ou Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; *p* – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para *p*<0.05.

Tabela 8.11 – Relação entre o polimorfismo da DHFR (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com DMO normal

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del ou Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(50)29,30±5,81	(135)29,72±4,88	0,617
Glicemia (mmol/L)	(43)96,40±37,06	(116)95,16±29,82	0,828
Insulina (mcUI/mL)	(39)9,73±8,14	(107)9,37±5,55	0,797
HOMA_{IR} (mcU/mL.mmol)	(38)2,27±2,125	(107)2,25±1,75	0,951
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(44)184,61±33,13	(111)201,22±39,80	0,015
HDL (mg/mL)	(43)58,07±15,50	(108)57,41±15,17	0,810
LDL (mg/mL)	(41)106,05±30,72	(101)120,21±32,60	0,018
Triglicéridos (mg/ml)	(42)105,38±58,03	(108)121,56±70,64	0,189
Calcemia (mg/dL)	(16)9,59±1,00	(34)9,40±0,53	0,391

Fosfatemia (mg/dl)	(14)3,45±0,38	(31)3,51±0,50	0,668
PTH (pg/mL)	(40)49,11±18,66	(104)45,07±20,25	0,276
Fosfatase alcalina (UI)	(39)60,31±19,96	(100)68,25±20,88	0,043
Fração óssea (µg/L)	(34)9,12±3,95	(91)10,71±3,92	0,045
Osteocalcina (ng/ml)	(25)6,69±6,46	(71)5,40±5,27	0,325

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.12– Relação entre o polimorfismo da DHFR (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	Ins/Ins (N) Média ± desvio padrão	Ins/Del ou Del/Del (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(46)27,29±4,95	(112)27,39±4,39	0,899
Glicemia (mmol/L)	(38)94,47±35,85	(99)96,43±38,98	0,788
Insulina (mcUI/mL)	(35)7,58±4,47	(94)7,52±4,62	0,950
HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol)	(34)1,74±1,27	(90)1,80±1,48	0,821
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(37)219,46±43,29	(93)203,02±40,16	0,041
HDL (mg/mL)	(37)58,87±13,65	(90)59,09±14,08	0,935
LDL (mg/mL)	(37)137,03±38,33	(87)123,33±35,85	0,059
Triglicéridos (mg/ml)	(37)115,81±55,93	(92)109,02±49,59	0,499
Calcemia (mg/dL)	(25)9,44±0,54	(52)10,58±8,42	0,505
Fosfatemia (mg/dl)	(26)3,27±0,52	(52)3,47±0,61	0,149
PTH (pg/mL)	(39)54,15±24,15	(92)54,17±23,05	0,996
Fosfatase alcalina (UI)	(35)71,43±24,05	(95)74,65±41,22	0,664
Fração óssea (µg/L)	(29)10,59±3,56	(72)12,29±9,25	0,338
Osteocalcina (ng/ml)	(33)10,61±15,90	(81)8,80±8,05	0,421

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da DHFR (Ins/Ins vs Ins/Del ou Del/Del) para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

8.3.3.3 Polimorfismo da MTHFR

Tabela 8.13 – Relação entre o polimorfismo da MTHFR (CC ou CT vs TT) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	CC ou CT (N) Média ± desvio padrão	TT (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(437)28,19±4,97	(66)28,46±5,4	0,861
Glicemia (mmol/L)	(360)95,64±35,97	(60)99,58±39,26	0,438
Insulina (mcUI/mL)	(336)8,33±5,26	(57)10,24±9,13	0,129
HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol)	(328)2,06±2,2	(57)2,55±2,64	0,134
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(354)199,55±39,26	(57)205,35±39,86	0,302
HDL (mg/mL)	(348)57,52±14,69	(56)61,88±15,75	0,042
LDL (mg/mL)	(333)119,76±34,66	(54)124,31±34,57	0,371
Triglicéridos (mg/ml)	(347)111,74±56,98	(56)116,32±72,54	0,592
Calcemia (mg/dL)	(149)9,76±5	(23)9,6±0,33	0,877
Fosfatemia (mg/dl)	(147)3,45±0,57	(22)3,58±0,41	0,313
PTH (pg/mL)	(346)49,16±23,39	(57)48,92±20,23	0,941
Fosfatase alcalina (UI)	(343)70,51±29,45	(56)64,96±21,66	0,178
Fração óssea (µg/L)	(287)11,14±6,11	(53)10,4±4,44	0,397
Osteocalcina (ng/ml)	(277)7,71±8,63	(38)4,57±4,31	0,001

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR (CC ou CT vs TT) para a população Total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.14 – Relação entre o polimorfismo da MTHFR (CC ou CT vs TT) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	CC ou CT	TT	P
	(N) Média ± desvio padrão	(N) Média ± desvio padrão	
IMC(kg/m ²)	(139)27,37±4,57	(19)27,27±4,49	0,923
Glicemia (mmol/L)	(120)95,58±36,85	(17)98,12±46,67	0,797
Insulina (mcUI/mL)	(112)7,62±4,43	(17)7,01±5,5	0,607
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(107)1,75±1,21	(17)1,98±2,42	0,710
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(113)205,03±40,47	(17)225,47±45,66	0,058
HDL (mg/mL)	(110)57,86±13,75	(17)66,53±12,81	0,016
LDL (mg/mL)	(107)126,11±36,46	(17)135,65±40,39	0,326
Triglicéridos (mg/ml)	(112)109,8±48,48	(17)118,65±68,75	0,510
Calcemia (mg/dL)	(69)10,26±7,32	(8)9,76±0,32	0,849
Fosfatemia (mg/dl)	(70)3,38±0,6	(8)3,6±0,42	0,329
PTH (pg/mL)	(114)53,34±22,95	(17)59,69±25,47	0,296
Fosfatase alcalina (UI)	(113)75,34±38,71	(17)63,47±24,77	0,223
Fração óssea (µg/L)	(84)12,1±8,54	(17)10,35±4,92	0,419
Osteocalcina (ng/ml)	(105)9,72±11,16	(9)4,66±5,02	0,181

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR (CC ou CT vs TT) para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.15 – Relação entre o polimorfismo da MTHFR (CC vs CT ou TT) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População Total

Parâmetros	CC	CT ou TT	P
	(N) Média ± desvio padrão	(N) Média ± desvio padrão	
IMC(kg/m ²)	(231)28,21±5,04	(272)28,23±5,01	0,960
Glicemia (mmol/L)	(192)99,08±43,56	(228)93,77±29	0,150
Insulina (mcUI/mL)	(177)8,53±5,6	(216)8,67±6,31	0,822
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(174)2,18±2,67	(211)2,1±1,89	0,708
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(193)200,45±39,84	(218)200,27±39	0,964
HDL (mg/mL)	(192)56,79±14,92	(212)59,33±14,8	0,087
LDL (mg/mL)	(184)120,75±34,08	(203)120,07±35,22	0,848
Triglicéridos (mg/ml)	(188)112,58±55,56	(215)112,2±62,52	0,948
Calcemia (mg/dL)	(224)24,3±8,22	(260)24,73±7,72	0,559
Fosfatemia (mg/dl)	(84)3,45±0,55	(85)3,48±0,55	0,689
PTH (pg/mL)	(187)49,37±25,93	(216)48,92±20,07	0,842
Fosfatase alcalina (UI)	(185)72,77±30,89	(214)67,1±26,11	0,048
Fração óssea (µg/L)	(151)11,75±6,98	(189)10,45±4,78	0,043
Osteocalcina (ng/ml)	(142)7,3±7,01	(173)7,36±9,23	0,953

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR (CC vs CT ou TT) para a população Total. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.16 – Relação entre o polimorfismo da MTHFR (CC vs CT ou TT) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	CC	CT ou TT	P
	(N) Média ± desvio padrão	(N) Média ± desvio padrão	
IMC(kg/m ²)	(79)27,57±5,08	(81)27,39±4,97	0,821
Glicemia (mmol/L)	(62)101,52±49,95	(62)93,39±27,18	0,263
Insulina (mcUI/mL)	(59)8,59±6,42	(59)8,83±7,18	0,849
HOMA _{IR} (mcU/mL.mmol)	(58)2,57±4,07	(58)2,16±2,17	0,499
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(66)197,94±34,98	(60)197,03±39,46	0,892
HDL (mg/mL)	(66)57,14±16,52	(60)58,63±14,49	0,591
LDL (mg/mL)	(64)118,88±32,76	(57)117,47±34,84	0,820
Triglicéridos (mg/ml)	(65)111,15±49,54	(59)104,97±63,29	0,544
Calcemia (mg/dL)	(21)9,09±0,53	(24)9,4±0,26	0,022

Fosfatemia (mg/dl)	(21)3,55±0,56	(25)3,52±0,56	0,835
PTH (pg/mL)	(66)49,77±29,31	(62)44,62±19,52	0,247
Fosfatase alcalina (UI)	(65)72,55±25,21	(65)66,74±24,49	0,185
Fração óssea (µg/L)	(55)11,84±5,71	(59)10,53±4,83	0,187
Osteocalcina (ng/ml)	(48)6,69±7,14	(57)6,6±6,12	0,947

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da MTHFR (CC vs CT ou TT) para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

8.3.3.4 Polimorfismo da GSTP1

Tabela 8.17 – Relação entre o polimorfismo da GSTP1 (AA ou AG vs GG) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteopenia

Parâmetros	AA ou AG (N) Média ± desvio padrão	GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(145)27,4±4,86	(15)28,2±6,43	0,561
Glicemia (mmol/L)	(113)96,88±39,38	(11)103,36±50,14	0,612
Insulina (mcUI/mL)	(106)8,75±7,01	(12)8,36±4,4	0,852
HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol)	(105)2,37±3,38	(11)2,34±1,73	0,977
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(114)196,68±36,19	(12)205,42±45,35	0,439
HDL (mg/mL)	(114)57,66±15,75	(12)59,67±13,89	0,672
LDL (mg/mL)	(109)117,68±32,45	(12)123,08±44,35	0,599
Triglicéridos (mg/ml)	(113)107,32±55,64	(11)117,36±65,38	0,575
Calcemia (mg/dL)	(42)9,29±0,4	(3)8,77±0,67	0,044
Fosfatemia (mg/dl)	(43)3,51±0,55	(3)3,88±0,63	0,267
PTH (pg/mL)	(114)45,4±19,09	(14)62,56±51,93	0,241
Fosfatase alcalina (UI)	(118)69,14±23,89	(12)74,58±34,43	0,474
Fração óssea (µg/L)	(102)11,02±5,02	(12)12,33±7,34	0,418
Osteocalcina (ng/ml)	(96)6,59±6,5	(9)7,19±7,75	0,794

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 (AA ou AG vs GG) para a população com Osteopenia. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.18 – Relação entre o polimorfismo da GSTP1 (AA vs AG ou GG) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com DMO normal

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG ou GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m²)	(68)30,4±5,08	(117)29,15±5,14	0,109
Glicemia (mmol/L)	(58)98,91±34,89	(101)93,52±29,93	0,305
Insulina (mcUI/mL)	(52)9,32±6,79	(94)9,54±6,08	0,835
HOMA_{IR} (mcU/ml.mmol)	(52)2,35±2,26	(93)2,2±1,58	0,637
Colesterol_{Total} (mg/mL)	(59)204,12±43,5	(96)191,82±34,77	0,054
HDL (mg/mL)	(59)56,58±14,03	(92)58,25±15,97	0,511
LDL (mg/mL)	(55)123,98±37,37	(87)111,15±28,3	0,032
Triglicéridos (mg/ml)	(58)112,5±66,17	(92)119,88±68,61	0,516
Calcemia (mg/dL)	(13)9,42±0,31	(37)9,47±0,81	0,830
Fosfatemia (mg/dl)	(12)3,61±0,35	(33)3,45±0,5	0,340
PTH (pg/mL)	(53)48,62±20,45	(91)44,78±19,45	0,265
Fosfatase alcalina (UI)	(51)67,22±24,21	(88)65,33±18,77	0,609
Fração óssea (µg/L)	(48)10,46±4,65	(77)10,17±3,52	0,694
Osteocalcina (ng/ml)	(35)4,82±4,41	(61)6,26±6,15	0,186

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 (AA vs AG ou GG) para a população com DMO normal. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.

Tabela 8.19 – Relação entre o polimorfismo da GSTP1 (AA vs AG ou GG) e os parâmetros antropométricos e metabólicos para a População com Osteoporose

Parâmetros	AA (N) Média ± desvio padrão	AG ou GG (N) Média ± desvio padrão	P
IMC(kg/m ²)	(64)27,13±4,9	(94)27,52±4,31	0,604
Glicemia (mmol/L)	(57)92,09±24,32	(80)98,6±45,29	0,280
Insulina (mcUI/mL)	(54)6,99±3,99	(75)7,93±4,93	0,250
HOMA _{IR} (mcU/ml.mmol)	(52)1,52±0,91	(72)1,98±1,68	0,055
Colesterol _{Total} (mg/mL)	(54)200,93±37,95	(76)212,51±43,57	0,118
HDL (mg/mL)	(52)60,29±14,27	(75)58,15±13,67	0,395
LDL (mg/mL)	(51)119,43±35,36	(73)133±37,32	0,044
Triglicéridos (mg/ml)	(53)110,02±48,55	(76)111,63±53,54	0,862
Calcemia (mg/dL)	(29)9,46±0,47	(48)10,66±8,77	0,461
Fosfatemia (mg/dl)	(29)3,42±0,56	(49)3,4±0,61	0,834
PTH (pg/mL)	(54)58,11±25,71	(77)51,4±21,16	0,105
Fosfatase alcalina (U)	(51)72,78±34,31	(79)74,43±39,34	0,807
Fração óssea (µg/L)	(39)10,54±4,39	(62)12,6±9,63	0,213
Osteocalcina (ng/ml)	(48)9,16±13,34	(66)9,44±8,76	0,892

N – Número de indivíduos analisados no polimorfismo da GSTP1 (AA vs AG ou GG) para a população com Osteoporose. Os valores para os genótipos e respectivos alelos representam frequências absolutas (frequência relativa, %); IMC, índice de massa corporal (kg/m²); HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; PTH – Hormona da Paratiroideia; p – Teste T de amostras independentes; Valores significativos para p<0.05.